



# **SOPORTES PLANOS MODIFICADOS CON NUEVOS MATERIALES SORBENTES EN TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN**

*Flat supports modified with new sorbent materials in  
microextraction techniques*

**Tesis Doctoral**

Julia Ríos Gómez

2018

TITULO: *SOPORTES PLANOS MODIFICADOS CON NUEVOS MATERIALES  
SORBENTES EN TÉCNICAS DE MICROEXTRACCION*

AUTOR: *Julia Ríos Gómez*

---

© Edita: UCOPress. 2019  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>  
[ucopress@uco.es](mailto:ucopress@uco.es)

---



# **SOPORTES PLANOS MODIFICADOS CON NUEVOS MATERIALES SORBENTES EN TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN**

**LOS DIRECTORES**



**Fdo. Mª Soledad Cárdenas Aranzana**

Catedrática del Departamento de  
Química Analítica de la Universidad de  
Córdoba

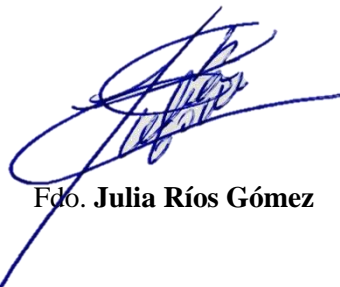


**Fdo. Rafael Lucena Rodríguez**

Profesor Titular del Departamento de  
Química Analítica de la Universidad de  
Córdoba

*Trabajo presentado para aspirar al Grado de Doctor en Ciencias*

**LA DOCTORANDA,**



**Fdo. Julia Ríos Gómez**





**M<sup>a</sup> Soledad Cárdenas Aranzana**, Catedrática del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba; **Rafael Lucena Rodríguez**, Profesor Titular del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba, en calidad de directores de la Tesis Doctoral presentada por la Licenciada Julia Ríos Gómez,

**CERTIFICAN:**

Que la Tesis Doctoral **“SOPORTES PLANOS MODIFICADOS CON NUEVOS MATERIALES SORBENTES EN TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN”** ha sido desarrollada en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba (España), y en la Escuela Superior de Física y de Química Industriales de París (Francia), y que, a nuestro juicio, reúne todos los requisitos exigidos a este tipo de trabajo.

Que Julia Ríos Gómez es la primera autora de todos los trabajos científicos presentados en esta Tesis Doctoral. De acuerdo con la normativa de esta Universidad y los acuerdos internos del Grupo de Investigación, el primer autor es el responsable de la realización del trabajo experimental y de la producción del manuscrito. Además, ha participado activamente en las reuniones periódicas con los directores para evaluar y discutir los resultados obtenidos durante la Tesis Doctoral.

Y para que conste y surta los efectos pertinentes, expiden el presente certificado en la ciudad de Córdoba, a 21 de octubre de 2018.



**M<sup>a</sup> Soledad Cárdenas Aranzana**



**Rafael Lucena Rodríguez**



**M<sup>a</sup> Soledad Cárdenas Aranzana**, Full Professor of Analytical Chemistry Department of the University of Córdoba; **Rafael Lucena Rodríguez**, Professor (Titular) of Analytical Chemistry Department of the University of Córdoba, in quality of supervisors of the Doctoral Thesis of Julia Ríos Gómez,

**CERTIFIES THAT:**

The Doctoral Thesis entitled “**FLAT SUPPORTS MODIFIED WITH NEW SORBENT MATERIALS IN MICROEXTRACTION TECHNIQUES**” has been developed in the laboratories of the Analytical Chemistry Department of the University of Córdoba (Spain) and in the Higher School of Physics and Industrial Chemistry of Paris (France), and, according to our judgement the Thesis fulfils all the requirements of this type of scientific work.

Julia Ríos Gómez is the first author of all the scientific articles developed during the experimental phase of the Thesis. According to both the University rules and internal agreements in our research group, the first author of a paper is the full responsible for the implementation of the experimental work and also to produce the first draft of the paper. In addition, she has also actively participated in the meetings with the supervisors to check and discuss the progress of the doctoral work.

Córdoba, 21<sup>st</sup> October 2018.



**M<sup>a</sup> Soledad Cárdenas Aranzana**



**Rafael Lucena Rodríguez**





**TÍTULO DE LA TESIS:** Soportes planos modificados con nuevos materiales sorbentes en técnicas de microextracción.

**DOCTORANDO/A:** Julia Ríos Gómez

### **INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS**

Julia Ríos Gómez es Licenciada en Ciencias Ambientales por la Universidad de Córdoba. Se incorporó al grupo de investigación antes de finalizar los estudios. Obtuvo el título de Máster en Química Fina y a partir de ese momento se dedicó intensamente al trabajo experimental apoyada por una beca de formación de profesorado universitario. Este periodo formativo le ha permitido la realización de la tesis doctoral, cuya Memoria se presenta para su defensa bajo la modalidad de doctorado internacional y como compendio de publicaciones.

La tesis doctoral evalúa el potencial de los soportes planos de extracción en la etapa de tratamiento de muestra analítico. En este contexto, se han propuesto diversos formatos que comparten como principal analogía el uso de papel de filtro como soporte de preparación de estos. El trabajo experimental se ha dividido en tres bloques experimentales. En el primer bloque se presentan dos recubrimientos poliméricos, de poliestireno y líquidos poliiónicos, que se aplican en dos configuraciones de extracción diferentes. El segundo bloque estudia el potencial de los materiales nanocomposites poliméricos para la extracción de compuestos modelos. Se usan para ello dos nanomateriales diferentes, nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  y nanotubos de carbono, de los que se explotan sus propiedades fotocatalíticas y extractantes, respectivamente. En el bloque final se presenta un recubrimiento basado única y exclusivamente en nanopartículas en el que se aprovecha la capacidad de autoensamblaje ordenado de los nanocuernos de carbono.

La doctoranda ha desarrollado destrezas en diversos campos, ya que aparte de la aplicación analítica de muchos de los desarrollos, se han necesitado realizar estudios de síntesis y caracterización de nuevos materiales. Además, uno de los materiales ha demostrado tener muy buenas propiedades sorbentes y fotocatalíticas. Esta aplicación, que ha trascendido el campo analítico, le confiere un carácter multidisciplinar a la Tesis.

Durante los años de desarrollo de la Tesis Doctoral, la doctoranda ha realizado una estancia de investigación, financiada por la beca de formación de profesorado universitario, en la *École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles* de París bajo la supervisión de la profesora Valérie Pichon. Esta estancia le permite cumplir uno de los requisitos necesarios para optar a la mención de doctorado internacional.

Como consecuencia de la investigación realizada, se han publicado (o están en vías de publicación) 5 artículos científicos experimentales, 1 artículo de revisión y 4 comunicaciones a congresos nacionales e internacionales.

La doctoranda ha impartido docencia práctica en los grados de Química y Bioquímica durante los años académicos 2015/16, 2016/17 y 2017/18. Ha participado en la dirección de un TFG del Grado de Ciencias Ambientales. Además, ha participado activamente en actividades de divulgación de la ciencia.

Durante este periodo formativo, la doctoranda ha adquirido las destrezas correspondientes al trabajo experimental, destacando aquellas habilidades para la síntesis de nuevos materiales. Las ciencias experimentales requieren de un esfuerzo continuo y de un trabajo exigente para llevar a buen puerto cada proyecto de investigación. La presentación de esta Memoria ha sido posible, entre otras cosas, al trabajo constante de la doctoranda, especialmente en los momentos más complicados.

La doctoranda ha mostrado una notable capacidad de colaboración con todos sus compañeros. Esta capacidad de trabajo en grupo es esencial en la ciencia moderna.

Finalmente, consideramos que la tesis doctoral cumple con los requisitos de originalidad, innovación y calidad exigibles a este tipo de trabajo.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 21 de octubre de 2018.

Firma de los directores



**Mª Soledad Cárdenas Aranzana**



**Rafael Lucena Rodríguez**

## **MENCIÓN DOCTORADO INTERNACIONAL**

Mediante la defensa de esta Memoria de Tesis Doctoral se pretende optar a la obtención de la Mención de “Doctorado Internacional” habida cuenta de que la doctoranda reúne los requisitos para tal mención (R.D. 99/2011, de 28 de Enero):

- 1) Cuenta con los informes favorables de dos doctores pertenecientes a instituciones de Enseñanza Superior de países distintos a España.
- 2) Uno de los miembros del tribunal que ha de evaluar la Tesis pertenece a un centro de Enseñanza Superior de otro país distinto a España.
- 3) Parte de la defensa de la Tesis Doctoral se realizará en una lengua distinta de las lenguas oficiales en España.
- 4) La doctoranda ha realizado una estancia de tres meses en la *École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles* de París (Francia) gracias a la concesión de una ayuda para estancias en el extranjero del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.





## INFORME DE FACTORES DE IMPACTO

A continuación, se adjunta una tabla con el factor de impacto y el cuartil del Journal Citation Reports en el que se encuentran las publicaciones derivadas de la presente Tesis Doctoral.

Revista	Categoría	Año	Factor de Impacto	Cuartil
Microchemical Journal	Química Analítica	2017	2.746	2
Molecules	Química Multidisciplinar	2018*	3.098	2
Journal of Cleaner Production	Ciencias Ambientales	2018*	5.651	1

*\*Para los datos de 2018 se usaron los correspondientes a 2017.*

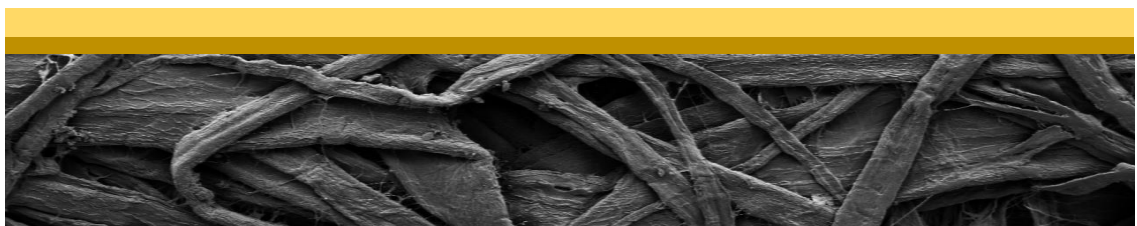
La doctoranda también figura como primera firmante de un capítulo de enciclopedia (Encyclopedia of Analytical Chemistry, ed. Wiley online library) y es autora de otros dos artículos científicos que están en vías de ser publicados.



Agradezco al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte la concesión de una beca de Formación del Profesorado Universitario (FPU) que ha hecho posible mi dedicación a este trabajo durante los últimos cuatro años.



# INDICE





## Contenido

<b>OBJETO .....</b>	<b>5</b>
<i>AIM .....</i>	<b>5</b>
<b>BLOQUE I.....</b>	<b>11</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>11</b>
I. 1. Técnicas de microextracción .....	13
I. 1.1. Microextracción en fase líquida.....	17
I. 1.1.1. Microextracción en gota ( <i>Single drop microextraction</i> , SDME) .....	17
I. 1. 1. 2. Microextracción líquido-líquido dispersiva ( <i>Dispersive</i> <i>liquid-liquid microextraction</i> , DLLME) .....	18
I. 1. 1. 3. Microextracción en fase líquida asistida por membrana.....	18
I. 1. 2. Técnicas de microextracción en fase sólida.....	21
I. 1. 2. 1. Microextracción con sorbentes empaquetados ( <i>microextraction by packed sorbents</i> , MEPs) .....	22
I. 1. 2. 2. Extracción con barra agitada ( <i>stir bar sorptive extraction</i> , SBSE).....	22
I. 1. 2. 3. Microextracción adsorptiva ( <i>adsorptive microextraction</i> , A $\mu$ E).....	24
I. 1. 2. 4. Microextracción en fase sólida en tubo ( <i>in-tube solid phase</i> <i>microextraction</i> , <i>in-tube SPME</i> ) .....	25
I. 2. Microextracción en película delgada ( <i>thin film microextraction</i> , TFME).....	26
I. 3. Medios de extracción planos.....	33
I. 3. 1. <i>Fabric phase</i> (FP) .....	33
I. 3. 2. Modificación de soportes planos con polímeros.....	35
I. 3. 3. Uso de nanomateriales en soportes planos.....	36
I. 3. 3. 1. <i>Nanocomposites</i> en <i>thin film</i> .....	40
I. 3. 4. Fases sorbentes basadas en papel.....	41

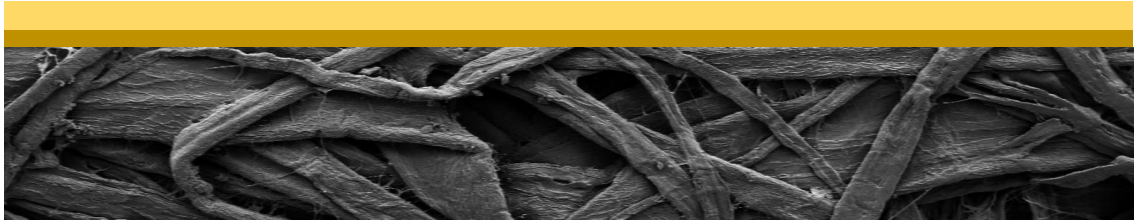


I. 4. Tendencias actuales en aplicaciones de soportes planos.....	43
Referencias .....	48
<b>BLOQUE II.....</b>	<b>65</b>
<b>Materiales poliméricos soportados en papel .....</b>	<b>65</b>
<b>Capítulo 1 .....</b>	<b>69</b>
Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction	71
1. Introduction .....	72
2. Experimental section .....	74
3. Results and discussion.....	77
4. Conclusions .....	83
<b>Capítulo 2 .....</b>	<b>95</b>
Polymeric ionic liquids in paper-based analytical device .....	97
<b>BLOQUE III.....</b>	<b>99</b>
<b>Materiales <i>composite</i> .....</b>	<b>99</b>
<b>Capítulo 3 .....</b>	<b>103</b>
Efficient combined sorption/photobleaching of dyes promoted by.....	105
cellulose/titania-based nanocomposite films .....	105
1. Introduction .....	106
2. Experimental Section .....	109
3. Results and discussion.....	111
4. Conclusions .....	123
<b>Capítulo 4 .....</b>	<b>131</b>
<i>Carbon nanotubes-polyvinyl chloride composite coated paper; sorptive phase and paper spray media.....</i>	<i>131</i>
Carbon nanotubes-polyvinyl chloride composite coated paper; sorptive phase and paper spray media.....	133
<b>BLOQUE IV .....</b>	<b>137</b>
Sólidos monolíticos de nanopartículas de carbono soportados sobre papel	137
<b>Capítulo 5 .....</b>	<b>141</b>

Carbon Nanohorn Suprastructures on a Paper Support as a Sorptive Phase .....	143
1. Introduction .....	144
2. Materials and Methods .....	147
3. Results and Discussion .....	150
4. Extraction Evaluation .....	153
5. Analytical Evaluation .....	155
6. Conclusions .....	158
<b>BLOQUE V</b> .....	173
<b>Resultados y discusión</b> .....	173
V. 1. Soportes planos integrados en puntas de micropipeta .....	177
V. 1. 1. Soporte planos de poliestireno como sorbente en microextracción en <i>thin film</i> .....	177
V. 1. 2. Superestructuras de nanocuernos de carbono (SWCNHs) soportada sobre papel .....	187
V. 1. 3. Evaluación conjunta de las metodologías utilizadas para soportes planos en punta de micropipeta .....	193
V. 2. Microextracción con soportes planos inmovilizados en viales .....	193
V. 2. 1. Soportes planos recubiertos con <i>nanocomposites</i> .....	193
V. 2. 1. 1. <i>Nanocomposites</i> de nailon y nanopartículas de TiO <sub>2</sub> .....	194
V. 2. 1. 2. <i>Nanocomposites</i> de policloruro de vinilo y nanotubos de carbono .....	202
V. 2. 2. Soportes planos recubiertos con líquidos (poli)iónicos .....	205
Referencias .....	212
<b>BLOQUE VI</b> .....	213
<b>Conclusiones</b> .....	213
Conclusions .....	213
<b>ANEXOS</b> .....	223
Anexo 1 .....	225
Publicaciones científicas derivadas de la Tesis Doctoral .....	225

Anexo 2 .....	235
<i>Publicaciones científicas relacionadas con la Tesis Doctoral</i> .....	235
Anexo 3 .....	241
<i>Actividades de divulgación científica</i> .....	241
Anexo 4 .....	245
<i>Comunicaciones a congresos</i> .....	245
Anexo 5 .....	255
<i>Actividades de innovación docente</i> .....	255

# OBJETO



*AIM*



De las etapas del proceso de medida químico, el tratamiento de muestra es quizás la fase más delicada, debido a que tiene una influencia directa en la calidad de la información (bio)química que se genera. Su papel en el aislamiento y la preconcentración de los analitos de interés es clave, ya que, proporciona una mejora en la sensibilidad y la selectividad analíticas.

La simplificación y miniaturización del tratamiento de muestra es de gran relevancia en la actualidad ya que, entre otras cosas, permite adaptar los procesos de medida (bio)químicos a los problemas analíticos modernos. Además, la reducción de recursos (reactivos, disolventes y energía) empleados en el análisis está en consonancia con la Química Verde.

El uso de soportes planos como medios de extracción ha permitido el desarrollo de nuevas técnicas de microextracción. Estos medios se caracterizan por presentar una relación superficie/volumen muy favorable, lo que redundo positivamente en la eficiencia y cinética de la extracción. En este campo, las membranas poliméricas se han empleado extensamente con muy buenos resultados. Sin embargo, su obtención es a veces compleja por lo que el uso de soportes alternativos como el papel, merece especial atención.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, el objetivo principal de la presente Tesis Doctoral ha sido el desarrollo y estudio del potencial de nuevas unidades sorbentes basadas en papel. No obstante, el carácter polar de su superficie hace necesaria la modificación del papel si quiere extenderse su aplicación al aislamiento de analitos de polaridad intermedia o no polares. Dichos soportes se utilizarán en diferentes técnicas de microextracción para la determinación de

distintos analitos de interés. A partir de este objetivo general se derivan objetivos específicos y transversales:

**Objetivos específicos**, cuyo desarrollo se llevará a cabo en Capítulos concretos de esta Memoria:

- Modificación de papel con fases poliméricas, a través de procesos sencillos y respetuosos con el medio ambiente. En la medida de lo posible se utilizarán residuos de plásticos comerciales para la obtención de recubrimientos poliméricos homogéneos. Dicho objetivo se desarrollará en los *Capítulos 1 y 2*.
- Desarrollo de nuevos procedimientos de síntesis de materiales híbridos que combinen polímeros con nanopartículas y puedan ser utilizados como recubrimiento de papel. Este objetivo se alcanzará en los *Capítulos 3 y 4*.
- Síntesis de nanomateriales como revestimiento único de soportes de papel. La inmovilización de los nanomateriales debe presentar estabilidad mecánica para usarse como fase sorbente. En el *Capítulo 5* se desarrollará este objetivo.

**Objetivos transversales** que se desarrollarán a lo largo de la presente Tesis Doctoral:

- Realización de procedimientos de recubrimiento que permitan una cobertura homogénea del soporte utilizado.
- Caracterización de los diferentes materiales obtenidos mediante diferentes técnicas instrumentales.
- Evaluación del potencial de las unidades obtenidas mediante su aplicación en diferentes técnicas de microextracción combinadas con técnicas cromatográficas y/o espectrometría de masas.
- Aplicación de las metodologías desarrolladas en el análisis de muestras biológicas y ambientales.

*Sample treatment is perhaps the most critical step in a given analytical process because it has a direct influence on the quality of the generated (bio)chemical data. The role of sample treatment in the isolation and preconcentration of the target analytes is vital for the improvement of the analytical sensitivity and selectivity.*

*The simplification and miniaturization of the sample treatment are of great relevance since they allow to adapt the (bio)chemical measurement processes to the modern analytical problems. Also, the reduction of the required resources (reagents, solvents, and energy) for the analysis is aligned with the Green Chemistry principles.*

*The use of flat supports as extraction media has allowed the development of new microextraction techniques. These media are characterized by a very favorable surface/volume ratio that positively affect the efficiency and kinetics of the extraction. In this field, polymeric membranes have been extensively used with very good results. However, their synthesis is sometimes complicated, so the use of alternative media such as paper deserves attention.*

*The primary objective of this Doctoral Thesis has been the development and study of the potential of new sorbent units based on paper. However, the polar nature of its surface makes the modification of the paper necessary to extend its application to the isolation of intermediate polarity or non-polar analytes. These supports will be used in distinct microextraction techniques for the determination of different analytes of interest. From this general aim, specific and transversal objectives are derived:*



***Specific objectives***, whose development will be carried out in specific Chapters of this work:

- *Modification of paper with polymeric phases, through simple and environmentally friendly processes. Whenever possible, commercial plastic wastes will be used to obtain homogeneous polymeric coatings. This goal will be developed in Chapter 1 and 2.*
- *Development of new procedures for the synthesis of hybrid materials, combining polymers and nanoparticles, and their coating over paper. The achievement of this objective will be presented in Chapters 3 and 4.*
- *Synthesis of pure nanomaterials coatings, without any aiding polymer, over paper supports. The immobilization of the nanomaterials must have mechanical stability to be used as a sorbent phase. This aim will be faced in Chapter 5.*

***Transversals objectives*** that will be developed throughout this Doctoral Thesis:

- *Development of coating procedures that allow a uniform coverage over the paper support.*
- *Characterization of the different materials obtained by several instrumental techniques.*
- *Evaluation of the potential of the units in different microextraction approaches combined with chromatographic and/or mass spectrometry techniques.*
- *Application of the methodologies to extract biological and environmental samples.*

# BLOQUE I



## Introducción



## **I. 1. Técnicas de microextracción**

El análisis directo de las muestras es la situación ideal en Química Analítica ya que es la forma más simple y rápida de obtener información sobre el sistema objeto de estudio. Sin embargo, en la mayoría de los casos, esta estrategia no es posible debido a la complejidad de la matriz de la muestra, su incompatibilidad con la técnica instrumental empleada o la baja concentración del analito de interés. El tratamiento de muestra juega, por tanto, un papel esencial en este contexto ya que minimiza o elimina estos inconvenientes. La etapa de tratamiento de muestra se sitúa tradicionalmente dentro de las operaciones previas del proceso de medida químico (PMQ) aunque una visión más actual de éste debería considerar también el acoplamiento de las técnicas de tratamiento de muestra con la etapa de muestreo e incluso con la medida y transducción de la señal [1].

Las técnicas de tratamiento de muestra, que son inevitables en la mayoría de los métodos de análisis y que suponen aproximadamente el 80% del tiempo total del proceso de medida químico, juegan un papel importante en la sensibilidad, selectividad y precisión del método (bio)analítico desarrollado. Una técnica de tratamiento de muestra ideal debe ser:

- simple, con un número reducido de etapas;
- automática, evitando así la manipulación directa de reactivos y muestras por parte del analista y minimizando los errores humanos asociados;
- rápida, abriendo la posibilidad a la medida de un número elevado de muestras;
- miniaturizada, reduciendo así el volumen de muestra, el consumo de reactivos y por tanto el coste económico de cada análisis;
- segura, tanto para los analistas como para el medioambiente.

De hecho, estas características definen los ejes que han marcado el desarrollo científico en este ámbito en las últimas décadas: simplificación, automatización, miniaturización, rapidez, reducción de costes y mejora de la seguridad [1].

La extracción líquido-líquido (*liquid-liquid extraction*, LLE) puede considerarse como la técnica de tratamiento de muestra más clásica. Aunque su impacto real en los laboratorios de rutina es hoy limitado, suele incluirse en las guías docentes de las asignaturas dedicadas a las técnicas analíticas de separación ya que facilita la comprensión de los fundamentos básicos de las extracciones analíticas. En la LLE clásica simple la muestra se pone en contacto con un disolvente extractante inmiscible y en el sistema bifásico generado, los analitos difunden de una fase a otra dependiendo de su afinidad (solubilidad) relativa. Una vez alcanzado el equilibrio, las fases se separan para su uso posterior. El reparto de extracción se rige por factores termodinámicos y cinéticos. El equilibrio se define en base al coeficiente de reparto del analito ( $K_D$ ), que consiste en la relación de concentración de analito repartido entre las dos fases.

$$K_D = [\text{analito}]_{\text{extractante}} / [\text{analito}]_{\text{muestra}}$$

Este tipo de extracción, aunque útil y eficiente, presenta algunos inconvenientes importantes. Por un lado, requiere de grandes cantidades de disolventes orgánicos de alta pureza, lo que conlleva la generación de grandes cantidades de residuos peligrosos además de un importante gasto económico. Por otra parte, también resulta ser una técnica complicada en cuanto a ejecución, tediosa, que consume mucho tiempo en desarrollarse y que difícilmente puede ser automatizada. La LLE es una técnica que requiere de múltiples etapas y que puede complicarse más aún en el caso de que se realicen extracciones consecutivas.

En 1988, Junk y Richard [2] propusieron por primera vez el uso de sorbentes sólidos como fase extractante, dando lugar así a la extracción en fase sólida (*solid phase extraction*, SPE). La SPE es una técnica de extracción consistente en la retención del analito de interés, originalmente presente en la muestra, en un soporte sólido. El tipo o tipos de interacción que se establecen en esta retención depende del binomio sorbente/analito. Asimismo, el equilibrio de retención puede definirse a través de la constante  $K_D$ , que indica qué fracción de analito se retiene y qué fracción permanece en la muestra. Tras el proceso extractivo, los analitos de interés se eluyen para su análisis instrumental final [3].

Aunque de forma clásica los sorbentes de base silíceas han sido los materiales de referencia, en la actualidad existe una gran variedad de materiales (fases poliméricas, de selectividad mejorada...) que amplían, más si cabe, el campo de aplicabilidad de la técnica. Además, la gran variedad de formatos distintos (cartuchos, membranas, discos, etc.) permite adaptar el proceso de extracción al problema analítico a resolver que vendrá definido fundamentalmente por el binomio analito/muestra.

En comparación con la LLE, la SPE requiere un menor volumen de disolvente orgánico lo que redundará en un abaratamiento de los procesos y en la reducción del impacto ambiental asociado. Además, permite alcanzar más fácilmente, factores de preconcentración elevados. Aun así, la SPE mantiene ciertos inconvenientes. Por un lado, sigue necesitando disolventes orgánicos a nivel de mililitros y es difícilmente adaptable al tratamiento de muestras de disponibilidad limitada.

Las técnicas de microextracción surgen en este contexto como respuesta a las técnicas de tratamiento más clásicas. Se basan en el uso de un volumen/cantidad menor de fase extractante que en la mayoría de los casos es varios órdenes de

magnitud inferior a la cantidad de muestra que se trata. Por eso, a diferencia de las técnicas de tratamiento clásicas, las técnicas de microextracción no consiguen un aislamiento exhaustivo de los analitos de interés. Esto que podría suponer un hándicap importante a la sensibilidad de los métodos analíticos desarrollados se palía mediante el diseño de técnicas de elución eficientes y gracias al acoplamiento directo de las técnicas de microextracción con las técnicas instrumentales.

La utilidad de las técnicas de microextracción es indiscutible pero su completa aceptación en los laboratorios de Química Analítica (incluyendo los métodos oficiales de análisis) depende de la automatización e integración con la instrumentación analítica convencional [4].

Las técnicas de microextracción se pueden clasificar en dos grandes grupos, microextracción en fase líquida y microextracción en fase sólida, dependiendo del tipo de fase extractante empleada. A su vez, cada grupo contiene una serie de técnicas las cuales se recogen en la Figura 1 y se comentarán brevemente a continuación.

<b>TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN</b>	
<b><i>Microextracción en fase líquida</i></b>	<b><i>Microextracción en fase sólida</i></b>
Microextracción en gota	Microextracción en sorbentes empaquetados
Microextracción líquido-líquido dispersiva	Extracción con barra agitada
Microextracción en fase líquida asistida por membrana	Microextracción adsortiva
	Microextracción en tubo
	Microextracción en película delgada

Figura 1. Agrupación de las técnicas de Microextracción en función del estado de agregación de la fase extractante.

## **I. 1.1. Microextracción en fase líquida**

### **I. 1.1.1. Microextracción en gota (*Single drop microextraction*, SDME)**

En 1995, se presenta la primera propuesta de miniaturización efectiva de la LLE. En el trabajo de Dasgupta *et al.* [5] se propone una unidad de flujo donde la muestra se hace fluir a través de una cámara con una gota de disolvente extractante. Si bien el sistema resulta ser muy efectivo, su aplicación resulta complicada y difícilmente transferible a otros laboratorios. En 1996 y 1997, dos grupos de investigación independientes proponen casi de forma simultánea una simplificación del proceso de extracción que implica el uso de una micro jeringa convencional como elemento de extracción [6,7]. Inicialmente, se toma un volumen concreto, entre 1-10  $\mu\text{L}$  del disolvente de extracción y el émbolo de la jeringa se mueve hasta que se crea una gota de disolvente en la punta de la aguja. Esta gota actúa como fase extractante de los analitos y tras la extracción, la gota de extractante conteniendo los analitos de interés se recupera en la microjeringa. Finalmente, la fase líquida se inyecta en el equipo de medida para la detección y determinación de los analitos.

La SDME es una técnica simple y barata. Además, es muy versátil ya que puede aplicarse en modos diferentes (espacio de cabeza, inmersión directa y extracción en tres fases) y empleando una gran variedad de disolventes distintos. Pese a sus múltiples ventajas, presenta ciertas deficiencias. La más acusada es su precisión limitada debido a la inestabilidad de la gota. Asimismo, es difícilmente acoplable a cromatografía de líquidos debido al pequeño volumen de fase extractante que se usa [1].



### **I. 1. 1. 2. Microextracción líquido-líquido dispersiva (*Dispersive liquid-liquid microextraction*, DLLME)**

La microextracción líquido-líquido dispersiva se describió por primera vez en 2006 por Rezaee *et al.* [8]. La técnica se basa en la dispersión química, por medio de un disolvente dispersante, de un pequeño volumen de fase extractante. El agente dispersante juega un papel fundamental ya que permite la formación de una nube de microgotas de disolvente extractante en la propia muestra, maximizando así el área de contacto entre fases y mejorando, por tanto, la cinética de transferencia de materia.

Pueden usarse una gran variedad de disolventes extractantes, siempre que sean inmiscibles con la muestra para así poder conseguir su separación tras la extracción. Además, debe tener una densidad lo suficientemente diferente a la de la muestra como para poder separar las fases mediante centrifugación. Usualmente, se han empleado disolventes clorados, hidrocarburos, alcoholes de cadena larga y líquidos iónicos con esta finalidad. De forma clásica, los agentes dispersantes empleados han sido acetonitrilo, etanol, metanol o acetona.

Esta técnica puede acoplarse tanto con cromatografía de gases (CG) como con cromatografía de líquidos (CL), aunque en esta última es recomendable evaporar y reconstituir el extracto (que suele ser inmisible con las fases móviles empleadas) en un disolvente compatible con la técnica.

### **I. 1. 1. 3. Microextracción en fase líquida asistida por membrana**

Esta técnica pretende resolver los problemas de estabilidad de la fase extractante observados en SDME, usando para tal fin una membrana polimérica que protege

y estabiliza mecánicamente el disolvente de extracción. Esta estabilización permite incrementar los tiempos de extracción lo que redundará muy positivamente en la sensibilidad de los métodos, facilitando la extracción. La membrana, debido a porosidad controlada, se emplea además como tamiz regulando el tipo de compuestos que pueden pasar a la fase extractante. Este efecto tamiz, que dificulta la difusión de macromoléculas, mejora sustancialmente la selectividad de la extracción [9].

Dentro de esta técnica se distinguen dos configuraciones especialmente interesantes, en función de la geometría de la membrana: microextracción con fibra hueca (*hollow-fiber liquid phase microextraction*, HF-LPME) y la microextracción con membrana plana.

La HF-LPME se desarrolló en 1999 por Pedersen-Bjergaard y Ramussen [10]. Esta técnica de microextracción surgió como un método de preparación de muestra barato, rápido, simple, que elimina la contaminación cruzada y es potencialmente automatizable. La técnica emplea una fibra hueca de polipropileno que es un material compatible con una amplia gama de disolventes orgánicos. La porosidad más usual de estas fibras (0.2  $\mu\text{m}$ ) permite que se puedan inmovilizar disolventes orgánicos en sus poros, lo que amplía su versatilidad. La HF-LPME se puede clasificar en función del número de fases involucradas en el sistema.

En la modalidad de dos fases (HF(2)-LPME), el volumen interno de la fibra y sus poros se ocupan con un disolvente orgánico inmiscible con agua. Los analitos difunden desde la muestra hasta el interior de la fibra, pasando por los poros, en base a su diferente solubilidad entre las fases implicadas. Esta modalidad se asemeja a la LLE clásica y está aconsejada para la extracción de compuestos

apolares o semipolares que presentan una mayor solubilidad en disolventes orgánicos que en agua [11].

En la microextracción en tres fases (HF (3)-LPME) se emplea una fase extractante de la misma naturaleza que la muestra y la membrana actúa como barrera física entre ambas fases miscibles evitando su mezcla directa. En el modo más común, la fibra se sumerge en un disolvente orgánico de baja polaridad (como por ejemplo n-octanol, dihexil éter o tolueno) que pasa a ocupar los poros de la fibra formando una membrana líquida soportada (*support liquid membrane*, SLM). En el interior de la fibra se sitúa una fase extractante acuosa que queda protegida por SLM y finalmente la fibra se sumerge en la muestra acuosa para la extracción de los analitos [12]. Esta modalidad se asemeja a una LLE con retroextracción y está indicada para la extracción de compuestos apolares ionizables. La polaridad de este tipo de compuestos depende del pH de trabajo por lo que esta variable química juega un papel fundamental en HF (3)-LPME. En esta modalidad se establece un gradiente de pH muestra-disolución aceptora que permite la transferencia efectiva de los analitos. Por ejemplo, para la extracción de compuestos ácidos se fija el pH de la muestra a un pH inferior al pKa (al menos dos unidades por debajo) del analito y el pH de la disolución aceptora a un pH superior.

La microextracción en fase líquida asistida con membrana plana permite la realización de extracciones en línea. En esta configuración, se diseña un dispositivo en el que la membrana se inmoviliza entre dos bloques acanalados. A través de esos canales se hacen fluir la disolución donadora y la aceptora, respectivamente [13] empleando un sistema de flujo [14].

Además, recientemente se ha propuesto la técnica *parallel artificial liquid membrane extraction* (PALME) que adapta los principios de microextracción

asistida con membrana a sistemas de pocillos que permiten la extracción de un número elevado de muestras de forma simultánea [15]. Esta aproximación permite la automatización de la técnica de extracción reduciendo la intervención humana y minimizando los recursos necesarios (disolventes y reactivos) para su desarrollo.

## **I. 1. 2. Técnicas de microextracción en fase sólida**

La microextracción en fase sólida (*solid phase microextraction*, SPME) es una técnica de preparación de muestra que se basa en el empleo de una cantidad muy reducida de material sorbente. La primera aportación a este conjunto de técnicas data de los años 1989-1990 cuando Pawliszyn propone el uso de fibras de sílice como soporte para el revestimiento polimérico que actúa como fase sorbente [16]. Desde entonces la técnica SPME ha experimentado una evolución continua siguiendo diversas líneas de investigación bien definidas: a) mejora de la durabilidad de los soportes; b) desarrollo y aplicación de nuevos recubrimientos que permitan afrontar la resolución de un número mayor de problemas analíticos; c) modelización teórica del proceso de microextracción; d) desarrollo de nuevos formatos de extracción como la técnica *thin film microextraction*; e) ampliación del campo de aplicación (muestreo *in situ* e *in vivo*), f) acoplamiento directo de las técnicas con espectrometría de masas.

La SPME consigue solventar algunos de los problemas de la SPE, manteniendo las ventajas que dicha técnica posee. Algunas de las características de la SPME son la simplicidad en cuanto a ejecución de la técnica, la reducción o eliminación completa del uso de disolventes orgánicos, la separación y preconcentración de los analitos con respecto a la matriz de la muestra, la disponibilidad de una amplia gama de fibras comerciales [17] y por último un amplio desarrollo hacia la

automatización como herramienta de rutina en análisis de muestras de alimentos [18], ambientales [19], clínicas [20] y farmacéuticas [21].

En inglés, existen además dos términos *solid phase microextraction* y *micro-solid phase extraction* que indican grados y formas diferentes de miniaturización de la técnica SPE. En español, en cambio, el término microextracción en fase sólida suele utilizarse para definir aquellas técnicas que emplean poca cantidad de sorbente. Las técnicas más relevantes se comentarán brevemente a continuación.

### **I. 1. 2. 1. Microextracción con sorbentes empaquetados** **(*microextraction by packed sorbents*, MEPs)**

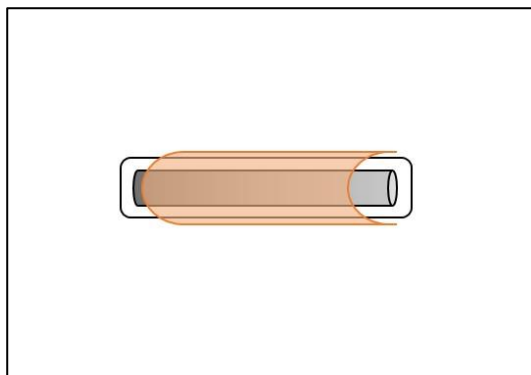
La microextracción con sorbentes empaquetados (MEPs) emplea una pequeña cantidad de sorbente de SPE y lo integra en una jeringa o punta de pipeta. Esta integración, así como la posibilidad de reutilizar (hasta más de 100 veces en algunos casos) el sorbente, facilita sobremanera la automatización de la técnica. Su formato miniaturizado permite procesar pequeños volúmenes de muestra (hasta 10  $\mu\text{L}$ ) lo que la convierte en una técnica ideal para el análisis de muestras biológicas, cuya disponibilidad suele ser limitada. Además, la técnica se puede acoplar en línea a CG, CL, y electrocromatografía capilar [17].

La técnica MEPs puede, en esencia, considerarse como una SPE miniaturizada ya que el procedimiento de extracción engloba las mismas etapas que ésta: acondicionamiento, extracción, lavado y elución final.

### **I. 1. 2. 2. Extracción con barra agitada (*stir bar sorptive extraction*, SBSE)**

La técnica de extracción con barra agitada (SBSE) fue propuesta en 1999 por Baltussen y colaboradores [22]. La barra está compuesta por un imán recubierto

de vidrio sobre el que se dispone una fina capa de (0.5-1 mm) de material polimérico (Figura 2). La barra se introduce en la muestra y se agita en ella lo que favorece la transferencia de los analitos desde la matriz hasta el recubrimiento polimérico. Tras esta extracción, la barra se recupera y los analitos se eluyen química o térmicamente según se emplee CL o CG [23,24] como técnica instrumental.



*Figura 2. Esquema de la unidad de extracción de barra agitada.*

En SBSE los recubrimientos poliméricos son más gruesos que en SPME en fibra lo que proporciona mayores recuperaciones de extracción. Sin embargo, la difusión de analito a través de un recubrimiento tan grueso está dificultada y los tiempos necesarios para alcanzar el equilibrio de extracción en SBSE son mayores que en SPME en fibra.

Al igual que en SPME, el recubrimiento más usual en SBSE es polidimetilsiloxano (PDMS) que debido a su apolaridad restringe el campo de aplicación de la técnica. En los últimos años, sin embargo, se han propuesto nuevos recubrimientos que permiten extraer compuestos de polaridad intermedia.

### I. 1. 2. 3. Microextracción adsortiva (*adsorptive microextraction*, AμE)

Las técnicas de AμE se basan en el uso de materiales con propiedades sorbentes cuyo origen está en las características físico-químicas de la superficie de los mismos. Los materiales sorbentes pese a su excelente afinidad por moléculas orgánicas presentan problemas desde el punto de vista práctico para su manipulación [25]. Este problema puede solventarse con la inmovilización de dichos sorbentes sobre algún soporte inerte que no comprometa sus características y que permitan una mejor manipulación de éstos por parte del operador.

La AμE puede utilizarse en diferentes formatos de extracción. Así, en 2010, Nogueira *et al.* desarrollaron dos configuraciones geométricas diferentes: la microextracción adsortiva en barra (BAμE) y en multi-esferas (MSAμE) [26].

En el caso de la BAμE la unidad consiste en un tubo hueco de polietileno con films adhesivos a los cuales se les fija diferentes materiales sorbentes (Fig. 3a). Las fases sorbentes de la MSAμE están basadas en el recubrimiento de 5-10 esferas de poliestireno (PS) unidas por un hilo con un material sorbente que se somete a un tratamiento térmico (Fig. 3b) [26].

Para el proceso de microextracción las unidades se introducen en el vial con la muestra y se agitan con una barra magnética. Este tipo de unidad representa un nuevo enfoque dentro de los dispositivos de microextracción con agitación, ya que la unidad flota en la muestra y así se evita el contacto con las paredes del vial, alargando así la vida útil del sorbente [25].

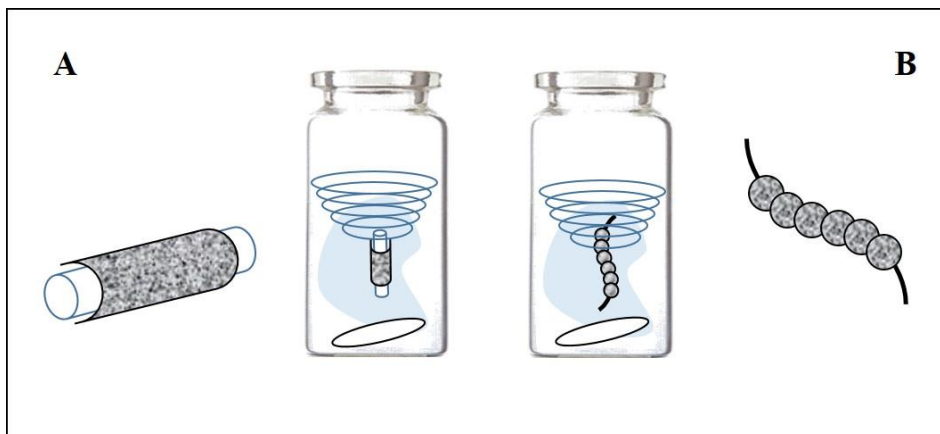


Figura 3. Esquema de las unidades de microextracción de (a) BAμE y (b) MSAμE.

La BAμE se ha utilizado para la determinación de medicamentos [27], agentes antimicrobianos [28], plaguicidas [29], contaminantes emergentes [30] y antibióticos [31].

#### **I. 1. 2. 4. Microextracción en fase sólida en tubo (*in-tube solid phase microextraction, in-tube SPME*)**

La SPME en tubo es una técnica de microextracción desarrollada por Eisert y Pawliszyn en 1997. En la aproximación original, la técnica empleaba un capilar de sílice fundida, cuya superficie interna se encontraba recubierta por una fase extractante afín a los analitos objeto de estudio [32]. De hecho, en las primeras aplicaciones se empleaban secciones de columnas capilares de cromatografía de gases como fase sorbente. Durante la extracción, la muestra se hace pasar a través del capilar, de tal forma que los analitos quedan retenidos en la fase sorbente. Tras la extracción, los analitos son desorbidos químicamente, obteniendo así un eluido que posteriormente se analiza mediante CL.



La SPME en tubo puede conectarse en línea con un cromatógrafo de líquidos, donde la extracción, preconcentración, inyección, separación y la detección se realizan en un solo paso. Como consecuencia, este procedimiento presenta algunas ventajas como la reducción del tiempo de análisis y una mejora en la precisión comparado con otras técnicas de extracción [33].

En los últimos años la técnica ha experimentado un nuevo auge gracias a la aplicación de materiales monolíticos como sorbentes. Este tipo de sorbentes maximizan el contacto analito-sorbente ya que son sólidos continuos con porosidad controlada. La posibilidad de emplear diversos precursores en la preparación de estos monolitos y su potencial modificación con nanopartículas incrementan, aún más el potencial de la técnica [34].

## **I. 2. Microextracción en película delgada (*thin film microextraction*, TFME)**

La TFME es una evolución de la técnica de microextracción en fase sólida, en la que se sustituye la fibra por una fase sorbente plana [35].

El procedimiento de extracción convencional es similar al desarrollado en SPME. En la Figura 4 se muestra el procedimiento completo cuando se acopla con CG. La fase extractante, convenientemente acondicionada, se introduce en la muestra y se despliega (Figura 4a) para garantizar un contacto más íntimo con ésta. Tras la extracción, la fase extractante se enrolla (Figura 4b) y se trasfiere al puerto de inyección del cromatógrafo de gases para la desorción térmica de los analitos (Figura 4c).

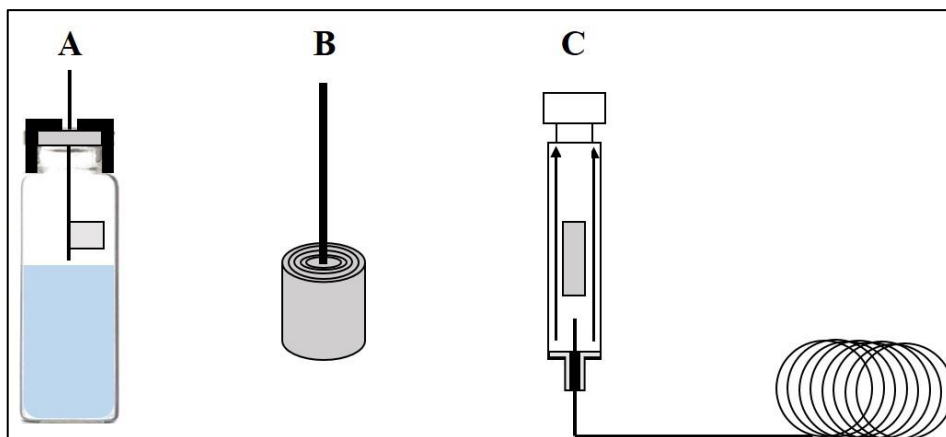


Figura 4. Esquema de sistema de membrana TFME.

Inicialmente, las fases sorbentes empleadas eran similares a las usadas en SPME siendo el PDMS la más frecuente. En los últimos años, en cambio, se han desarrollado múltiples alternativas basadas en diferentes procedimientos como deposición, polimerización *in situ* o formación sol-gel.

Según la teoría de la SPME el rendimiento de extracción es proporcional al volumen de fase sorbente. Sin embargo, cuando se trabaja en SPME en fibra, un aumento del volumen de fase sorbente implica necesariamente un aumento del grosor del recubrimiento lo que redunda negativamente en la cinética de extracción. De hecho, el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio ( $t_e$ ) de extracción depende de diversos factores tal y como se muestra en la Ecuación 1 [35].

$$t_e = t_{95\%} = 3 \frac{\delta K_{es} (b - a)}{D}$$

Ecuación 1. Donde  $(b - a)$  representa el grosor del recubrimiento,  $D$  es el coeficiente de difusión del analito y  $\delta$  es el grosor de la capa de Nernst.

Atendiendo a esta ecuación queda de manifiesto que un grosor excesivo de recubrimiento ralentizaría la extracción afectando finalmente a la eficiencia de ésta. El uso de membranas ha supuesto, por tanto, una mejora sustancial en el rendimiento de la microextracción en fase sólida. El cambio de geometría de la fase sorbente incrementa su relación superficie/volumen mejorando de forma evidente la cinética de la extracción. Así, una fibra de SPME suele poseer un área de  $10 \text{ mm}^2$ , mientras que una membrana cuadrada de 1 cm de lado exhibe una superficie de  $200 \text{ mm}^2$  si se tienen en cuenta ambas caras de la membrana [36].

De la Ecuación 1 se deduce un aspecto de la microextracción en fase sólida que es común a la mayoría de las técnicas de microextracción. La difusión del analito, que depende tanto de  $D$  como de  $\delta$ , es un aspecto crucial en la transferencia de éste desde la muestra a la fase sorbente. La agitación de la muestra durante el proceso de extracción minimiza el valor de  $\delta$ , y por tanto, reduce el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de partición. En TFME la agitación de la muestra puede hacerse de dos formas: a) usando un elemento de agitación externo o b) integrando el medio de agitación y el sorbente en el mismo dispositivo. Esta última alternativa es especialmente interesante y permite mejorar la eficiencia del proceso de extracción. Así, Pawliszyn y colaboradores propusieron un dispositivo que hacía uso de un taladro eléctrico (Fig. 5) en el que se sitúa la membrana y que permite la agitación de la fase sorbente dentro de la propia muestra [37].

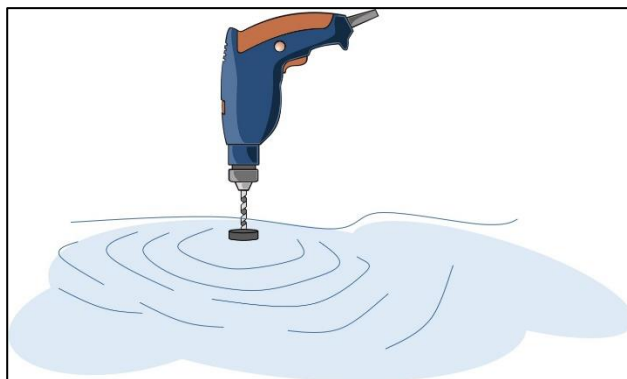


Figura 5. Esquema de muestreo *in situ* con TFME.

Esta aproximación es especialmente útil para el muestreo *in situ* de contaminantes en muestras ambientales. Por un lado, se simplifica el proceso de muestreo ya que no es necesario transportar grandes volúmenes de muestra al laboratorio, sino que sólo se trasladan las fases sorbentes conteniendo los analitos ya extraídos. Además, muchos analitos son inestables (pérdidas por volatilidad, adsorción o degradación) cuando se almacenan en contacto directo con la matriz de la muestra por un periodo prolongado, por lo que su retención en una fase sorbente es una estrategia ideal de conservación.

En 2009, el mismo grupo de investigación mejoró la técnica incorporando una malla de cobre para proteger la fase sorbente durante la extracción y transporte [37]. Existen múltiples aplicaciones en la bibliografía que corroboran el potencial de la TFME en el muestreo ambiental. Así, Bragg *et al.* la han aplicado para el estudio de la distribución de hidrocarburos aromáticos polinucleares en agua de río [38]. La fase sorbente que se utiliza en este caso consiste en una *thin film* de PDMS cuadrada de 4 cm<sup>2</sup> de superficie y terminada en una sección triangular de 1 cm de altura (Fig. 6). La *thin film* está unida a un cable de acero inoxidable que sirve como soporte de la misma y que además permite su introducción en el cromatógrafo de gases para su análisis. En el caso de llevar a cabo el muestreo en

campo, la *thin film* se introduce en la malla de cobre, protegiéndola así de la degradación y de la contaminación por algas.

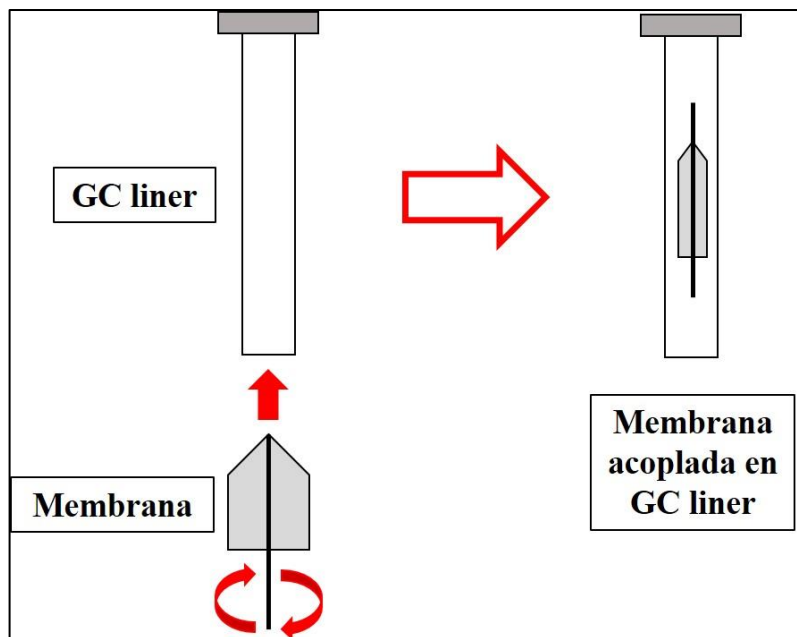


Figura 6. Esquema del diseño de *thin film* de PDMS e inserción dentro del liner del cromatógrafo de gases para su análisis.

El muestreo en campo es especialmente complejo debido a la existencia de una serie de variables que afectan al rendimiento de extracción pero que son difícilmente controlables sobre el terreno. Es necesario, por tanto, emplear un estándar interno que normalice la señal instrumental. Este estándar interno, con el que suele impregnarse la membrana inicialmente, informa de aquellas variables que generan o pueden generar pérdidas de analito.

Aunque usualmente la técnica TFME se ha aplicado a muestras líquidas, Eom *et al.* han evaluado su potencial en el tratamiento de muestras gaseosas. En este caso, se ha propuesto el uso de una *thin film* de PDMS para el aislamiento de una

feromona del insecto *Cimex lectularis*, vector de enfermedades humanas tales como el mal de Chagas o hepatitis B, en aire. La determinación posterior de esta feromona permite identificar la presencia del insecto en espacios cerrados, facilitando así su eliminación [39]. Asimismo, Jiang y Pawliszyn en 2014 presentaron un dispositivo de preconcentración en línea que permite la entrada continua de aire y, por tanto, el muestreo de un gran volumen de muestra. La membrana empleada está refrigerada para favorecer el equilibrio de partición y mejorar así los rendimientos de extracción. Además, el dispositivo permite la introducción directa de la membrana con el analito extraído en el tubo de desorción térmica del equipo CG-espectrometría de masas (EM), garantizando una transferencia eficiente del analito [40].

La técnica TFME también encuentra una gran aplicabilidad en el análisis de muestras biológicas y aquellas aplicaciones *in situ* en las que se realizan simultáneamente la etapa de muestreo y extracción. Así, Bessoneau et al. han aplicado la técnica para la determinación de 40 sustancias ilegales, incluyendo metabolitos, y esteroides endógenos en muestras de saliva humana [41]. La biocompatibilidad de las TFME permite el muestreo *in vivo* de la cavidad bucal lo que simplifica sobremanera el procedimiento analítico (Fig. 7).



Figura 7. Fotografía de la aplicación de Bessoneau et al. [41].

En el ámbito bioanalítico, la determinación de diferentes drogas y medicamentos en matrices biológicas como orina y sangre humana también se ha estudiado

mediante la técnica TFME [42,43]. En ambos estudios se utiliza una *thin film* recubierta por C18-poliacrilonitrilo, la cual favorece la preconcentración de los analitos aumentando así la sensibilidad de todo el procedimiento. Además, la biocompatibilidad del recubrimiento lo hace ideal para el análisis de matrices biológicas complejas. Tras la extracción, las *thin films* contenidas en una placa de 96 pocillos, se analizan mediante análisis directo en tiempo real (DART) acoplado a CL-EM/EM.

En la aproximación más clásica, las técnicas de microextracción como la TFME suelen acoplarse a técnicas de separación instrumentales como la cromatografía. Estas técnicas proporcionan además una mejora adicional de la selectividad, al conseguir la separación de los analitos de la matriz co-extraídas antes de la determinación instrumental. Sin embargo, la aplicación de las técnicas cromatográficas ralentiza el análisis y además lo encarece ya que implica un gasto adicional (columnas, disolventes, etc.). El acoplamiento directo de las técnicas de microextracción con técnicas instrumentales de selectividad mejorada puede soslayar ambas limitaciones permitiendo el análisis rápido y barato de un gran número de muestras. Strittmatter *et al.* han propuesto el acoplamiento directo de una *thin film* comercial con EM, usando una fuente de ionización DESI (desorption electrospray ionization) para la desorción e ionización de los analitos diana en un solo paso [44]. En esta aproximación, la TFME combina el muestreo y la preparación de la muestra en un único paso, proporcionando además una geometría perfecta para el análisis directo de la muestra por DESI-EM. Las ventajas más sobresalientes del método son la simplicidad, la rapidez y la sensibilidad. Por otro lado, Deng *et al.* y Cai *et al.* han estudiado el uso combinado de TFME y de la espectroscopía Raman para la determinación de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) en vino y ácido benzoico en bebidas carbonatadas, respectivamente [45,46].

La microextracción en *thin film* es una excelente técnica de preparación de muestra, ya que presenta una gran capacidad extractiva y un tiempo de extracción corto debido a la favorable relación superficie-volumen de extracción. En los últimos años, la investigación se ha centrado en dos aspectos clave: a) desarrollo de nuevos recubrimientos que mejoren la capacidad y la selectividad de extracción de los ya existentes; y b) el acoplamiento con técnicas instrumentales como la EM.

### **I. 3. Medios de extracción planos**

#### **I. 3. 1. *Fabric phase* (FP)**

La extracción en fase sólida usando FP como medio sorbente se propuso por primera vez en 2014 por Kabir y Furton [47]. Una *fabric phase* es una membrana de celulosa o fibra de vidrio de alta porosidad que se emplea como soporte inerte de un recubrimiento orgánico sol-gel. De hecho, la tecnología sol-gel ha demostrado un gran potencial para la modificación de sustratos inorgánicos en el ámbito de la microextracción [48,49], originando híbridos inorgánico-orgánico muy porosos sobre matrices flexibles y permeables [48].

En la FPs, el recubrimiento sol-gel se distribuye de forma homogénea sobre una estructura de alta porosidad a través de la cual pueden permear fácilmente tanto muestras líquidas como gaseosas (Fig. 8). El recubrimiento sol-gel presenta además una densidad 400 veces mayor que las respectivas fibras de SPME, proporcionando una alta capacidad sorbente. En la primera aplicación desarrollada usando como método de extracción la FP, se determinaron  $17\alpha$ -etinilestradiol,  $\beta$ -estradiol y bisfenol-A (BPA) en muestras de orina y agua mediante CL con detector de fluorescencia (FD) [50].



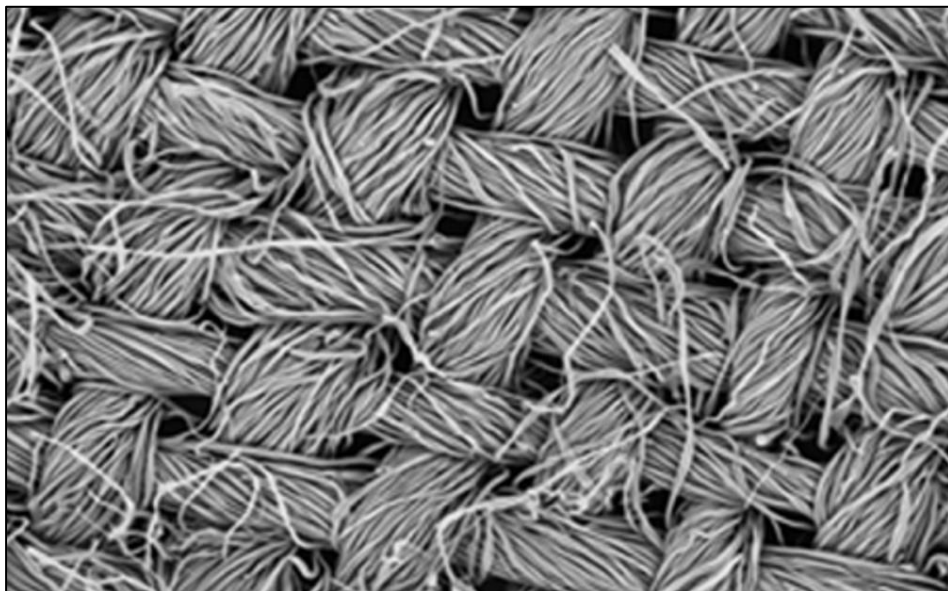


Figura 8. Imagen de FPs tomada con SEM [51].

El potencial de las FPs ha permitido el desarrollo de nuevas modalidades de extracción. En 2015, se empleó esta fase sorbente en el desarrollo de la técnica *stir fabric phase extraction* que es una adaptación de la técnica *stir membrane extraction* [52]. La porosidad mejorada de las FPs sobre las membranas comerciales, así como la densidad de fase sorbente permite alcanzar factores de preconcentración de hasta 1411 de una forma sencilla y rápida.

Las FPs también puede emplearse en la extracción de compuestos volátiles en muestras de aire. Así, en 2017 se aplicó para el aislamiento de una feromona de *Tuta absoluta* de muestras de aire ambiental. Esta aplicación fue posible gracias al diseño de una unidad innovadora que permitía de forma secuencial el muestreo de aire y el análisis de los analitos extraídos mediante CG-EM haciendo uso de un automuestreador de espacio de cabeza convencional [53].

En los últimos años, las FPs se han empleado para la resolución de numerosos problemas analíticos en diversos campos de aplicación [54] y sus características las hacen especialmente interesantes en desarrollos futuros [55].

### **I. 3. 2. Modificación de soportes planos con polímeros**

Los polímeros son el resultado de la combinación de varias unidades simples denominadas monómeros que se repiten estructuralmente siguiendo un patrón determinado. Los filtros o membranas poliméricas se usan en Química Analítica como soportes, filtros, barreras físicas y fases extractantes [11]. Estas aplicaciones se fundamentan esencialmente en su resistencia (química, mecánica) y versatilidad (existe una gran variedad de polímeros con estructuras químicas y funcionalidades diversas). Además, suelen ser fáciles de obtener comercialmente e incluso pueden sintetizarse en el laboratorio siguiendo rutas de síntesis bien definidas y reproducibles. Este tipo de materiales a su vez puede reutilizarse e incluso reciclarse para otros usos.

Si bien existe una gran variedad de membranas poliméricas, es usual que se sintetizen en el laboratorio cuando se afrontan problemas analíticos concretos ya que así pueden seleccionarse la funcionalidad y características (porosidad, superficie) que más se adapten al caso concreto. Una de las técnicas más utilizadas es el electrospinning ya que permite sintetizar membranas poliméricas de fibras desnudas cuyo intervalo oscila entre un tamaño micro/nanométrico, con una orientación espacial al azar o alineada [56,57]. En 2012, Bagueri y Aghakhani propusieron una membrana de *composite* polimérico de polianilina (PANI) y nailon-6 (N6) como fase sorbente en espacio de cabeza para la extracción de varios clorobencenos en muestras de agua [58]. Las membranas de PANI-N6 conforman un tejido de nanofibras con un intervalo de 100 a 300 nm. Para llevar a cabo la extracción, la membrana se sitúa dentro de un soporte metálico que se

coloca en la parte superior del vial que alberga la muestra, evitando el contacto directo de la membrana con la muestra. La razón por la que los analitos quedan retenidos en la membrana se debe a la presencia de anillos aromáticos presentes en la estructura del PANI, con los cuales establece interacciones  $\pi$ - $\pi$  [58].

Otros polímeros empleados son poliestireno divinilbenceno (PS-DVB) [59], poliestireno (PS) [60,61], nailon (N6) [62] y policloruro de vinilo (PVC) [63].

Otro tipo de recubrimiento polimérico es el desarrollado a partir de líquidos iónicos. En 2008, Jia *et al.* desarrollaron una unidad inmovilizando un líquido iónico sobre la superficie de un electrodo. La inmovilización la consiguieron gracias al enlace covalente establecido entre el líquido iónico y una polietilimina, garantizando así una gran estabilidad del recubrimiento [64]. Ciertamente existen numerosos estudios acerca del uso de líquidos iónicos como recubrimiento polimérico de superficies planas [65–68], sin embargo el procedimiento de síntesis suele ser largo y complejo.

### **I. 3. 3. Uso de nanomateriales en soportes planos**

Las nanopartículas (NPs) se pueden definir como grupos de átomos o moléculas (en forma de óxidos metálicos) con una o más dimensiones en la escala nanométrica, tomando como referencia arbitraria 100 nm. Además, estas dimensiones dotan al material de propiedades físicoquímicas no observables a escala macroscópica [69].

Las NPs se pueden clasificar atendiendo a diferentes criterios:

- *Origen.* Pueden ser naturales o fruto de actividades antropocéntricas, ya sea de manera voluntaria o involuntaria (como productos secundarios de una reacción).

- *Naturaleza química.* Inorgánicas o basadas en carbono.
- *Composición.* Puras o híbridas, según el número de elementos de los que estén compuestas.
- *Número de dimensiones* en la escala nanométrica. En este caso, pudiendo ser 1, 2 ó 3 dimensiones.
- *Las propiedades más relevantes* que se explotan del nanomaterial: propiedades químicas, eléctricas, ópticas, térmicas o magnéticas.

El tamaño tan reducido de las NPs, hace que en conjunto posean una elevada área superficial, propiedad que les permite maximizar las interacciones con los analitos de interés. Las interacciones que se establezcan dependerán de la naturaleza química del nanomaterial. Las NPs pueden adquirirse comercialmente o sintetizarse en el laboratorio mediante protocolos de complejidad variable. Los nanomateriales pueden desempeñar diferentes funciones dentro del proceso analítico, siendo especialmente importantes en la etapa del tratamiento de muestra. Además, en la bibliografía se pueden encontrar muchos ejemplos del uso de estos materiales como fases estacionarias en CL y CG además de fases (pseudo) estacionarias en electroforesis capilar (EC) [70].

Las NPs usadas en microextracción pueden clasificarse en:

- **NPs de carbono**

Las formas alotrópicas del carbono que más se utilizan en microextracción son:

- Nanotubos de carbono (*carbon nanotubes*, CNTs). La estructura de los CNTs se basa en una lámina de carbono dispuesta hexagonalmente que se enrolla de forma tubular, con un diámetro aproximado de 2.5 a 30 nm. Pueden estar compuestos por una única capa (nanotubos de pared simple, *single walled carbon nanotubes*, SWCNTs) o por varias capas concéntricas (nanotubos de pared múltiple, *multi walled carbon nanotubes*,

MWCNTs). Las propiedades más destacables de estos materiales son la alta estabilidad térmica, mecánica y eléctrica. La hidrofobicidad de su superficie hace que se puedan establecer interacciones no covalentes con compuestos orgánicos [71,72].

- Nanocuernos de carbono (*single walled carbon nanohorns, SWCNHs*). Su estructura consiste en una lámina de grafeno plegada en forma de cuerno. Presentan longitudes de 40-50 nm y un diámetro inferior a 2-5 nm [71]. Son propensos a agregarse formando estructuras organizadas llamadas dalias (Fig. 9) [73].

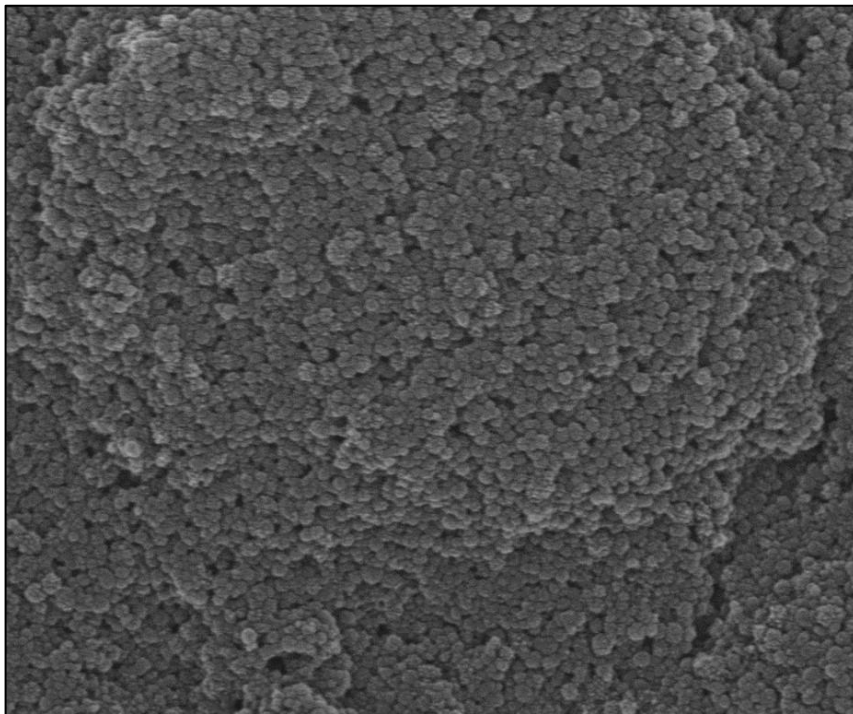


Figura 9. Imagen SEM de formación de dalias de SWCNHs.

- Fullerenos. Son estructuras de carbono formadas por anillos pentagonales y hexagonales que adoptan una forma cuasi-esférica [74].

- Grafeno (G). Consta de una estructura bidimensional de una sola capa de átomos de carbono distribuidos en una red hexagonal. Posee excelentes propiedades mecánicas, eléctricas, térmicas y ópticas, además de una gran área superficial y es susceptible a la derivatización [75].
- **NPs inorgánicas**
  - Nanopartículas de oro (*gold nanoparticles*, AuNPs). Poseen excelentes propiedades físicas y químicas derivadas de su tamaño. Las aplicaciones que tienen van desde el diagnóstico clínico hasta la catálisis entre otras [76,77]. Estas nanopartículas tienen afinidad por los grupos tioles [78], característica que puede ser aprovechada en técnicas de microextracción.
  - Nanopartículas de plata (*silver nanoparticles*, AgNPs). Estas nanopartículas presentan unas dimensiones dentro del intervalo de 1 a 100 nm [69]. Se caracterizan por ser partículas con plata en estado de oxidación 0. Su obtención se debe a la reducción química de una sal de plata en presencia de un agente reductor (normalmente citrato). La plata es ampliamente conocida por su aplicación antibacteriana, razón por la que las AgNPs se utilizan como agentes bactericidas [79].
  - Óxidos metálicos ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{MnO}$ ,  $\text{CeO}_2$ ,  $\text{Fe}_x\text{O}_y$ ). Las propiedades de adsorción de muchos óxidos dependen en gran medida de características tales como la estructura cristalina, los defectos y superficie específica [80]. Una de las nanopartículas más utilizadas son las magnéticas (*magnetic nanoparticles*, MNPs) basadas en magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), presentando superparamagnetismo cuando su tamaño es inferior a 100 nm [69], debido a estas características resultan ser una herramienta muy útil en microextracción [81]. Otro tipo de

nanopartículas cuyo uso está muy extendido son las basadas en sílice, ya que éstas presentan un gran área superficial y exhiben una gran reactividad que las hace fácilmente modificables [81]. Las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  son esféricas de tamaño aproximado de 100 a 200 nm, pudiéndose presentar como nanotubos o nanocables. Este tipo de nanopartículas proviene del  $\text{TiO}_2$ , el cual podemos encontrar en la naturaleza como anatasa, rutilo y brookita, dependiendo en la estructura cristalina en la que se disponga [82]. Algunas de las propiedades de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  son la gran estabilidad mecánica, su baja toxicidad y su gran potencial fotocatalítico [83].

La incorporación de nanomateriales a soportes planos abre un nuevo campo de posibilidades dentro de la microextracción. Por ejemplo, Deng *et al.* han desarrollado un nuevo enfoque de TFME acoplado a espectroscopía Raman en el que se inmovilizan nanopartículas de ZnO sobre un soporte de vidrio para la determinación de  $\text{SO}_2$  en vino [45].

### **I. 3. 3. 1. *Nanocomposites en thin film***

Un *composite* se puede definir como el resultado de la combinación (sinérgica) de dos o más materiales que tienen una naturaleza diferente y bien definida. Cuando uno de los dos materiales es de carácter nanométrico y el otro es polimérico suele hablarse de *nanocomposites* poliméricos. En estos materiales, el dominio nanométrico incrementa el área superficial del polímero lo que repercute en una mejora en la eficiencia y cinética de la extracción. Además de esto, puede dotar al *nanocomposite* de otras propiedades (magnetismo, fotocatalisis, etc.) en función del material nanométrico elegido para su síntesis. Por otra parte, el dominio polimérico puede elegirse en función del problema analítico a resolver.

La incorporación de biopolímeros al *composite* aumenta la selectividad en la interacción con el analito de interés [84].

El uso de estos *nanocomposites* en microextracción es un tópico de gran interés y actualidad como puede deducirse de la bibliografía científica. Matin *et al.* han propuesto por primera vez una fibra de SPME nanoestructurada compuesta por un *composite* de Zn/Al LDH-TiO<sub>2</sub>, cuya síntesis está basada en la técnica sol-gel, para la determinación de un medicamento antiepiléptico mediante CG [85]. Ghiasvand y colaboradores han propuesto una fibra recubierta con un *nanocomposite* de grafeno-polianilina para la determinación de nicotina en tabaco y en muestras de pelo mediante CG [86]. Asimismo, Bagueri *et al.* han sintetizado por electrospinning nanofibras de polibutileno conteniendo diferentes cantidades de nanopartículas magnéticas para el aislamiento de triazinas [56]. La fabricación de *nanocomposites* de PS/G ha sido el objetivo del grupo de Xu [87] mientras que Liu *et al.* han sintetizado un *nanocomposite* con excelentes propiedades SERS y catalíticas, basado en una membrana de nanofibras conteniendo NPs metálicas [88].

Ayazi *et al.* han desarrollado un enfoque novedoso para la preparación de una *thin film* basado en el método de intercambio de disolventes, usando como soporte papel de celulosa. Este *nanocomposite* consiste en el uso de NPs de ZnO/poliamida (PA). La PA se utiliza como matriz polimérica del *composite*, y además de servir como soporte estructural puede establecer interacciones eficientes con la celulosa del soporte y con el analito de interés [89].

### **I. 3. 4. Fases sorbentes basadas en papel**

La celulosa está considerada como el biopolímero más abundante y renovable de la naturaleza siendo de esta forma una materia prima muy prometedora en



términos económicos para la fabricación de diversos materiales funcionales [90]. Se trata de polímero lineal no ramificado formada a partir de 10000 a 15000 unidades de D-glucosa. Los residuos de glucosa de la celulosa están unidos por enlaces glucosídicos ( $\beta 1 \rightarrow 4$ ) dando lugar de esta manera a una estructura tridimensional que confieren a este polisacárido propiedades físicas diferentes a la de otros glúcidos [91].

Los filtros de celulosa están muy presentes en los laboratorios de química analítica para la separación cualitativa y cuantitativa de sedimentos y precipitados. Dichos filtros están compuestos de alrededor del 98% de celulosa con un alto grado de polimerización lo que le confiere una alta capacidad de resistencia a disoluciones tanto ácidas como básicas.

El papel es un soporte ideal y versátil para la fabricación de fases sorbentes en TFME. Es un material asequible, barato y poroso. Su naturaleza hidrofílica puede limitar su uso a la extracción de analitos polares y cationes, pero su modificación química, incluyendo grupos funcionales en superficie, permite extender su campo de aplicación a analitos no polares o de polaridad intermedia [92,93].

En 2013, Saraji *et al.* propusieron por primera vez el uso de papel para la determinación de compuestos orgánicos en muestras de agua. La superficie del papel se modificó con diversos grupos funcionales (fenil isocianato, ciclohexil isocianato, difenildiclorosilano y octadeciltriclorosilano) para potenciar la interacción con los analitos diana [92]. Si bien los grupos funcionales propuestos se asemejan a los usados en los sorbentes de SPE, el recubrimiento puede ser mucho más sofisticado incluyendo biomoléculas como ácidos nucleicos [94], proteínas [95], vitaminas [96] o glúcidos [97].

La inclusión de polímeros en la superficie del papel es una estrategia interesante debido a las propiedades tan ventajosas (estabilidad, versatilidad) que tienen este tipo de materiales. Recientemente, Yen *et al.* han propuesto la modificación de papel con polidopamina aprovechando la capacidad que presenta la dopamina de auto-polimerizar en fase acuosa a pH alcalino [98]. La modificación del papel, en este caso, es bastante sencilla ya que solo requiere sumergir el material en una disolución básica de dopamina. Así, la polimerización de la dopamina genera un recubrimiento sobre el papel con capacidad extractiva. Este procedimiento de síntesis es además respetuoso con el medio ambiente ya que no requiere reactivos tóxicos ni disolventes orgánicos [99].

Por último, Ye *et al.* han propuesto el recubrimiento de papel con líquidos iónicos como fases sorbentes en microextracción. En esta aproximación, consiguieron recubrir la superficie del soporte con 1-dodecil imidazolio generando micro dominios hidrofílicos e hidrofóbicos que se aplicaron para la extracción de BPA en muestras de aceite. Este trabajo ha sido pionero en cuanto a inmovilización de IL sobre papel dentro del contexto de la TFME [100] y abre la puerta a nuevas aplicaciones ya que los líquidos iónicos presentan una gran afinidad por analitos que contengan en su estructura química grupos ácidos y anillos aromáticos [101].

## **I. 4. Tendencias actuales en aplicaciones de soportes planos**

Como ya se ha indicado, el análisis directo de las muestras es la situación ideal en Química Analítica. Aunque esta situación ideal es difícilmente alcanzable, en los últimos años se aboga por una simplificación de los PMQ con objeto de reducir costes y aumentar el número de muestras que pueden analizarse por unidad de tiempo. El uso de soportes planos como medio de extracción no es ajeno a esta tendencia y está cada vez más orientado al acoplamiento directo con la instrumentación analítica.

Existen diversas técnicas instrumentales, como la espectroscopía de infrarrojo (IR) o Raman, que permiten el análisis directo de soportes sólidos. Sin embargo, su baja sensibilidad y su selectividad comprometida cuando no se analizan compuestos puros limita su aplicabilidad, dificultando la determinación de los analitos de interés. La EM, en cambio, presenta una muy buena sensibilidad y selectividad (el grado en ambos depende de la fuente de iones y el tipo de analizador empleado) y supone un paso adelante hacia la automatización de las etapas del proceso analítico [102].

En 2010, el grupo de investigación de Ouyang desarrolló un nuevo método de análisis directo de mezclas complejas, denominado *paper spray* (PaS) [103,104]. El PaS es una técnica de ionización suave a presión atmosférica que se asemeja a la ionización por electrospray. Las ventajas más destacables del PaS son la rapidez y la posibilidad de realizar análisis cualitativos y cuantitativos de mezclas complejas.

Para la introducción de la muestra en el equipo se utiliza un pequeño soporte de papel de forma triangular ya que esta geometría favorece la dispersión y transporte de los analitos al interior del equipo. Para la ionización de la muestra, es necesario la aplicación de un alto voltaje (Fig. 10) entre el sustrato y la entrada del EM que genera un aerosol de disolvente que permite la ionización de los analitos de interés y su transferencia al EM.

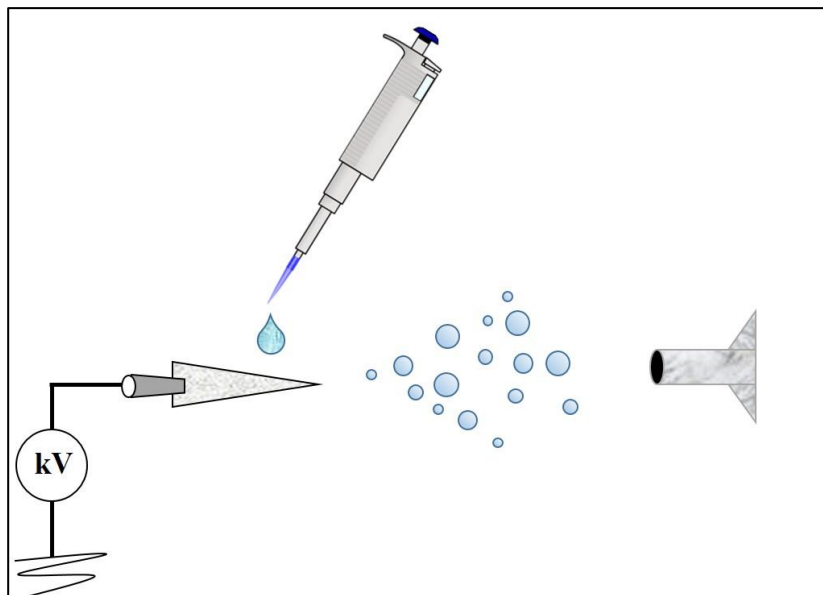


Figura 10. Esquema de funcionamiento de la técnica paper spray.

Zhang *et al.* han conseguido integrar un cartucho de SPE a la técnica de PaS. Como se aprecia en la Figura 11, el procedimiento que se sigue consiste en la extracción y preconcentración del analito de interés con ayuda de un cartucho de SPE. Tras ello, el cartucho es desplazado hacia la zona donde se llevará a cabo la pulverización del analito que está acoplado en línea con el EM. El acoplamiento directo del dispositivo de extracción a la técnica instrumental hace del procedimiento un “todo en uno” [105].

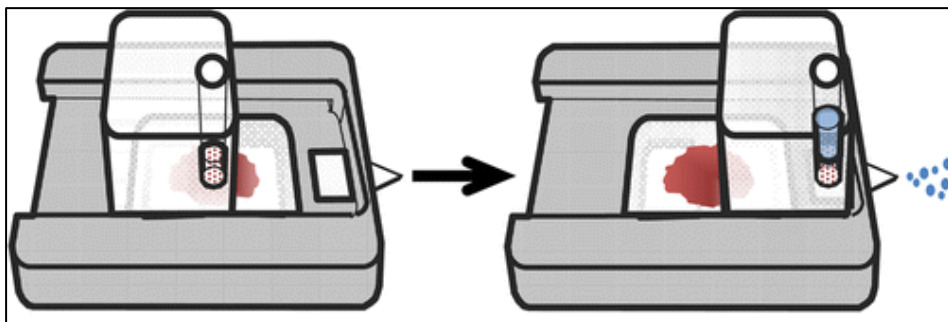


Figura 11. Esquema de sistema de SPE acoplado a PaS [105].

Como consecuencia de la búsqueda de una mejora en cuanto a selectividad y sensibilidad en el análisis, Fang *et al.* diseñaron una técnica para el acoplamiento de LPME y PaS para la determinación de cristal de violeta, verde malaquita y sus metabolitos. El método demostró tener un gran potencial en cuanto rapidez y sensibilidad, pero también limitaciones para trabajar con analitos apolares o muy reactivos [106].

Lara-Ortega *et al.* exploraron el potencial del análisis directo de muestra de aceite de oliva mediante espectrometría de masas. Para ello, se llevó a cabo el análisis de la muestra mediante PaS por un lado y sonda de plasma de baja temperatura (*low-temperature plasma*, LTP) por otro, ambos acoplados a EM. Los autores determinaron que el grado de ionización de los analitos mediante PaS fue notablemente mejor que en el caso de la LTP [107]. El grupo de Cooks, empleó PaS-EM para la determinación simultánea de drogas en muestras de sangre [108]. Dhummakupt *et al.* emplearon la técnica para la determinación de aerosoles de armas químicas (*chemical warfare agents*, CWA) mediante PaS-MS [109].

Narayanan *et al.* han incorporado CNTs al soporte de papel que forma parte de la configuración normal del PaS. Los autores han sintetizado el recubrimiento del papel con los CNTs mediante la técnica de drop-casting. [102].

En la presente Memoria se propone el diseño de unidades de extracción basadas en soportes planos recubiertos con materiales de diferente naturaleza. Dichas unidades tienen como denominador común el uso de papel como soporte inerte, que es susceptible de ser modificado en superficie para la mejora de las propiedades analíticas.

A lo largo de los siguientes capítulos de la Tesis, se presentarán las diferentes contribuciones aportadas para la resolución de problemas analíticos de carácter ambiental y clínicos. El trabajo experimental desarrollado a lo largo de los cuatro años de la Tesis Doctoral queda dividido en la presente Memoria en tres bloques según sea el recubrimiento utilizado: polímeros (**Bloque II**), *composites* (**Bloque III**) y nanomateriales (**Bloque IV**). Por último, en los **Bloques V** y **VI** se expondrán respectivamente los resultados y conclusiones más relevantes de la investigación.

## **Referencias**

- [1] R. Lucena, M. Cruz-Vera, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Liquid-phase microextraction in bioanalytical sample preparation, *Bioanalysis*. 1 (2009) 135–149. doi:10.4155/bio.09.16.
- [2] G.A. Junk, J.J. Richard, Organics in water: solid phase extraction on a small scale, *Anal. Chem.* 60 (1988) 451–454. doi:10.1021/ac00156a016.
- [3] N.J.K. Simpson, ed., *Solid-phase extraction: principles, techniques, and applications*, Marcel Dekker, New York, 2000.
- [4] M. Cruz-Vera, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Sample treatments based on dispersive (micro)extraction, *Anal. Methods*. 3 (2011) 1719. doi:10.1039/c1ay05201b.
- [5] S. Liu, P.K. Dasgupta, Liquid droplet. A renewable gas sampling interface, *Anal. Chem.* 67 (1995) 2042–2049. doi:10.1021/ac00109a023.
- [6] M.A. Jeannot, F.F. Cantwell, Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle, *Anal. Chem.* 69 (1997) 235–239. doi:10.1021/ac960814r.
- [7] Y. He, H.K. Lee, Liquid-phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a conventional microsyringe, *Anal. Chem.* 69 (1997) 4634–4640. doi:10.1021/ac970242q.
- [8] M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani, Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction, *J. Chromatogr. A*. 1116 (2006) 1–9. doi:10.1016/j.chroma.2006.03.007.

- [9] T. Hyötyläinen, M.-L. Riekkola, Sorbent- and liquid-phase microextraction techniques and membrane-assisted extraction in combination with gas chromatographic analysis: A review, *Anal. Chim. Acta.* 614 (2008) 27–37. doi:10.1016/j.aca.2008.03.003.
- [10] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, Liquid–liquid–liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650–2656. doi:10.1021/ac990055n.
- [11] E. Carasek, J. Merib, Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review, *Anal. Chim. Acta.* 880 (2015) 8–25. doi:10.1016/j.aca.2015.02.049.
- [12] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid–liquid extraction, *J. Chromatogr. A.* 1184 (2008) 132–142. doi:10.1016/j.chroma.2007.08.088.
- [13] K. Kuosmanen, T. Hyötyläinen, K. Hartonen, M.-L. Riekkola, Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and sediment with on-line coupled pressurised hot water extraction, hollow fibre microporous membrane liquid–liquid extraction and gas chromatography, *The Analyst.* 128 (2003) 434–439. doi:10.1039/b301532g.
- [14] J.Å. Jönsson, L. Mathiasson, Supported liquid membrane techniques for sample preparation and enrichment in environmental and biological analysis, *TrAC Trends Anal. Chem.* 11 (1992) 106–114. doi:10.1016/0165-9936(92)85008-S.
- [15] M. Roldán-Pijuán, S. Pedersen-Bjergaard, A. Gjelstad, Parallel artificial liquid membrane extraction of acidic drugs from human plasma, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 2811–2819. doi:10.1007/s00216-015-8505-9.



- [16] C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers, *Anal. Chem.* 62 (1990) 2145–2148. doi:10.1021/ac00218a019.
- [17] M.M. Moein, A. Abdel-Rehim, M. Abdel-Rehim, Microextraction by packed sorbent (MEPS), *TrAC Trends Anal. Chem.* 67 (2015) 34–44. doi:10.1016/j.trac.2014.12.003.
- [18] E. Gionfriddo, É.A. Souza-Silva, T.D. Ho, J.L. Anderson, J. Pawliszyn, Exploiting the tunable selectivity features of polymeric ionic liquid-based SPME sorbents in food analysis, *Talanta*. 188 (2018) 522–530. doi:10.1016/j.talanta.2018.06.011.
- [19] J. Pang, M. Mei, D. Yuan, X. Huang, Development of on-line monolith-based in-tube solid phase microextraction for the sensitive determination of triazoles in environmental waters, *Talanta*. 184 (2018) 411–417. doi:10.1016/j.talanta.2018.03.005.
- [20] S. Hamidi, N. Alipour-Ghorbani, A. Hamidi, Solid phase microextraction techniques in determination of biomarkers, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 48 (2018) 239–251. doi:10.1080/10408347.2017.1396885.
- [21] R. Wang, W. Li, Z. Chen, Solid phase microextraction with poly(deep eutectic solvent) monolithic column online coupled to HPLC for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Anal. Chim. Acta.* 1018 (2018) 111–118. doi:10.1016/j.aca.2018.02.024.
- [22] E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C. Cramers, Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles, *J. Microcolumn Sep.* 11 (1999) 737–747. doi:10.1002/(SICI)1520-667X(1999)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4.

- [23] M. Kissoudi, V. Samanidou, Recent advances in applications of ionic liquids in miniaturized microextraction techniques, *Molecules*. 23 (2018) 1437. doi:10.3390/molecules23061437.
- [24] F.J. Camino-Sánchez, R. Rodríguez-Gómez, A. Zafra-Gómez, A. Santos-Fandila, J.L. Vilchez, Stir bar sorptive extraction: Recent applications, limitations and future trends, *Talanta*. 130 (2014) 388–399. doi:10.1016/j.talanta.2014.07.022.
- [25] J.M.F. Nogueira, Microextração adsortiva em barra (BA $\mu$ E): Um conceito analítico inovador para microextração estática, *Sci. Chromatogr.* 5 (2013) 275–283. doi:10.4322/sc.2014.010.
- [26] N.R. Neng, A.R.M. Silva, J.M.F. Nogueira, Adsorptive micro-extraction techniques—Novel analytical tools for trace levels of polar solutes in aqueous media, *J. Chromatogr. A*. 1217 (2010) 7303–7310. doi:10.1016/j.chroma.2010.09.048.
- [27] A.H. Ide, J.M.F. Nogueira, New-generation bar adsorptive microextraction (BA $\mu$ E) devices for a better eco-user-friendly analytical approach—Application for the determination of antidepressant pharmaceuticals in biological fluids, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 153 (2018) 126–134. doi:10.1016/j.jpba.2018.02.001.
- [28] N.R. Neng, J.M.F. Nogueira, Development of a bar adsorptive micro-extraction—large-volume injection—gas chromatography—mass spectrometric method for pharmaceuticals and personal care products in environmental water matrices, *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 1355–1364. doi:10.1007/s00216-011-5515-0.
- [29] N.R. Neng, A.S. Mestre, A.P. Carvalho, J.M.F. Nogueira, Powdered activated carbons as effective phases for bar adsorptive micro-extraction (BA $\mu$ E)

to monitor levels of triazinic herbicides in environmental water matrices, *Talanta*. 83 (2011) 1643–1649. doi:10.1016/j.talanta.2010.11.049.

[30] M.P. de Souza, T.M. Rizzetti, J.Z. Francesquett, O.D. Prestes, R. Zanella, Bar adsorptive microextraction (BA $\mu$ E) with a polymeric sorbent for the determination of emerging contaminants in water samples by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *Anal. Methods*. 10 (2018) 697–705. doi:10.1039/C7AY02792C.

[31] A.H. Ide, S.M. Ahmad, N.R. Neng, J.M.F. Nogueira, Enhancement for trace analysis of sulfonamide antibiotics in water matrices using bar adsorptive microextraction (BA $\mu$ E), *J. Pharm. Biomed. Anal.* 129 (2016) 593–599. doi:10.1016/j.jpba.2016.07.022.

[32] R. Eisert, J. Pawliszyn, Automated in-tube solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography, *Anal. Chem.* 69 (1997) 3140–3147. doi:10.1021/ac970319a.

[33] Y. Moliner-Martinez, R. Herráez-Hernández, J. Verdú-Andrés, C. Molins-Legua, P. Campíns-Falcó, Recent advances of in-tube solid-phase microextraction, *TrAC Trends Anal. Chem.* 71 (2015) 205–213. doi:10.1016/j.trac.2015.02.020.

[34] B. Fresco-Cala, Ó. Mompó-Roselló, E.F. Simó-Alfonso, S. Cárdenas, J.M. Herrero-Martínez, Carbon nanotube-modified monolithic polymethacrylate pipette tips for (micro)solid-phase extraction of antidepressants from urine samples, *Microchim. Acta*. 185 (2018). doi:10.1007/s00604-017-2659-4.

[35] I. Bruheim, X. Liu, J. Pawliszyn, Thin-film microextraction, *Anal. Chem.* 75 (2003) 1002–1010. doi:10.1021/ac026162q.

- [36] M. Roldán-Pijuán, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Solid-phase microextraction under the thin film format, in: *Anal. Microextraction Tech.*, 2016: pp. 306–326.
- [37] Z. Qin, L. Bragg, G. Ouyang, V.H. Niri, J. Pawliszyn, Solid-phase microextraction under controlled agitation conditions for rapid on-site sampling of organic pollutants in water, *J. Chromatogr. A.* 1216 (2009) 6979–6985. doi:10.1016/j.chroma.2009.08.052.
- [38] L. Bragg, Z. Qin, M. Alaei, J. Pawliszyn, Field Sampling with a Polydimethylsiloxane Thin-Film, *J. Chromatogr. Sci.* 44 (2006) 317–323. doi:10.1093/chromsci/44.6.317.
- [39] I.-Y. Eom, S. Risticvic, J. Pawliszyn, Simultaneous sampling and analysis of indoor air infested with *Cimex lectularius* L. (Hemiptera: Cimicidae) by solid phase microextraction, thin film microextraction and needle trap device, *Anal. Chim. Acta.* 716 (2012) 2–10. doi:10.1016/j.aca.2011.06.010.
- [40] R. Jiang, J. Pawliszyn, Cooled membrane for high sensitivity gas sampling, *J. Chromatogr. A.* 1338 (2014) 17–23. doi:10.1016/j.chroma.2014.02.070.
- [41] V. Bessonneau, E. Boyaci, M. Maciazek-Jurczyk, J. Pawliszyn, *In vivo* solid phase microextraction sampling of human saliva for non-invasive and on-site monitoring, *Anal. Chim. Acta.* 856 (2015) 35–45. doi:10.1016/j.aca.2014.11.029.
- [42] F.S. Mirnaghi, J. Pawliszyn, Reusable solid-phase microextraction coating for direct immersion whole-blood analysis and extracted blood spot sampling coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry and direct analysis in real time–tandem mass spectrometry, *Anal. Chem.* 84 (2012) 8301–8309. doi:10.1021/ac3018229.

- [43] A. Rodriguez-Lafuente, F.S. Mirnaghi, J. Pawliszyn, Determination of cocaine and methadone in urine samples by thin-film solid-phase microextraction and direct analysis in real time (DART) coupled with tandem mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 405 (2013) 9723–9727. doi:10.1007/s00216-013-6993-z.
- [44] N. Strittmatter, R.-A. Düring, Z. Takáts, Analysis of wastewater samples by direct combination of thin-film microextraction and desorption electrospray ionization mass spectrometry, *The Analyst*. 137 (2012) 4037. doi:10.1039/c2an35411j.
- [45] Z. Deng, X. Chen, Y. Wang, E. Fang, Z. Zhang, X. Chen, Headspace thin-film microextraction coupled with surface-enhanced Raman scattering as a facile method for reproducible and specific detection of sulfur dioxide in wine, *Anal. Chem.* 87 (2015) 633–640. doi:10.1021/ac503341g.
- [46] L. Cai, J. Dong, Y. Wang, X. Chen, Thin-film microextraction coupled to surface enhanced Raman scattering for the rapid detection of benzoic acid in carbonated beverages, *Talanta*. 178 (2018) 268–273. doi:10.1016/j.talanta.2017.09.040.
- [47] A. Kabir, K.G. Furton, Fabric phase sorptive extractors (fpse), US Patent Application, 2014.
- [48] S.L. Chong, D. Wang, J.D. Hayes, B.W. Wilhite, A. Malik, Sol–gel coating technology for the preparation of solid-phase microextraction fibers of enhanced thermal stability, *Anal. Chem.* 69 (1997) 3889–3898. doi:10.1021/ac9703360.
- [49] A. Kabir, K.G. Furton, A. Malik, Innovations in sol-gel microextraction phases for solvent-free sample preparation in analytical chemistry, *TrAC Trends Anal. Chem.* 45 (2013) 197–218. doi:10.1016/j.trac.2012.11.014.

- [50] R. Kumar, Gaurav, Heena, A.K. Malik, A. Kabir, K.G. Furton, Efficient analysis of selected estrogens using fabric phase sorptive extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection, *J. Chromatogr. A.* 1359 (2014) 16–25. doi:10.1016/j.chroma.2014.07.013.
- [51] M. Roldán-Pijuán, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, A. Kabir, K.G. Furton, Stir fabric phase sorptive extraction for the determination of triazine herbicides in environmental waters by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.* 1376 (2015) 35–45. doi:10.1016/j.chroma.2014.12.027.
- [52] R. Rodríguez-Gómez, M. Roldán-Pijuán, R. Lucena, S. Cárdenas, A. Zafra-Gómez, O. Ballesteros, A. Navalón, M. Valcárcel, Stir-membrane solid–liquid–liquid microextraction for the determination of parabens in human breast milk samples by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1354 (2014) 26–33. doi:10.1016/j.chroma.2014.05.071.
- [53] M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, A. Kabir, K.G. Furton, Integrated sampling and analysis unit for the determination of sexual pheromones in environmental air using fabric phase sorptive extraction and headspace-gas chromatography–mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1488 (2017) 17–25. doi:10.1016/j.chroma.2017.01.077.
- [54] V.F. Samanidou, Fabric phase sorptive extraction in pharmaceutical Analysis, *Pharm. Anal. Acta.* 06 (2015). doi:10.4172/2153-2435.1000e177.
- [55] E. Zilfidou, A. Kabir, K. Furton, V. Samanidou, Fabric phase sorptive extraction: current state of the art and future perspectives, *separations.* 5 (2018) 40. doi:10.3390/separations5030040.

- [56] H. Bagheri, M. Najafi Mobara, A. Roostaie, M.Y. Baktash, Electrospun magnetic polybutylene terephthalate nanofibers for thin film microextraction, *J. Sep. Sci.* 40 (2017) 3857–3865. doi:10.1002/jssc.201700504.
- [57] Q. Xu, S.-Y. Wu, M. Wang, X.-Y. Yin, Z.-Y. Wen, W.-N. Ge, Z.-Z. Gu, Electrospun Nylon-6 nanofibrous membrane as SPE adsorbent for the enrichment and determination of three estrogens in environmental water samples, *Chromatographia*. 71 (2010) 487–492. doi:10.1365/s10337-009-1453-9.
- [58] H. Bagheri, A. Aghakhani, Polyaniline-nylon-6 electrospun nanofibers for headspace adsorptive microextraction, *Anal. Chim. Acta*. 713 (2012) 63–69. doi:10.1016/j.aca.2011.11.027.
- [59] J.J. Sun, J.S. Fritz, Chemically modified resins for solid-phase extraction, *J. Chromatogr. A*. 590 (1992) 197–202. doi:10.1016/0021-9673(92)85382-4.
- [60] F. Liu, H. Xu, Development of a novel polystyrene/metal-organic framework-199 electrospun nanofiber adsorbent for thin film microextraction of aldehydes in human urine, *Talanta*. 162 (2017) 261–267. doi:10.1016/j.talanta.2016.09.065.
- [61] X.-M. He, G.-T. Zhu, J. Yin, Q. Zhao, B.-F. Yuan, Y.-Q. Feng, Electrospun polystyrene/oxidized carbon nanotubes film as both sorbent for thin film microextraction and matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*. 1351 (2014) 29–36. doi:10.1016/j.chroma.2014.05.045.
- [62] M. Saraji, A. Keykavooci, Octadecylsilane/Nylon-6 composite as a thin-film microextraction sorbent for the determination of bisphenol A in water samples: sample preparation, *J. Sep. Sci.* 39 (2016) 3616–3623. doi:10.1002/jssc.201600056.

- [63] M. Asadnia, M. Myers, G.A. Umana-Membreno, T.M. Sanders, U.K. Mishra, B.D. Nener, M.V. Baker, G. Parish,  $\text{Ca}^{2+}$  detection utilising AlGaIn/GaN transistors with ion-selective polymer membranes, *Anal. Chim. Acta.* 987 (2017) 105–110. doi:10.1016/j.aca.2017.07.066.
- [64] F. Jia, C. Shan, F. Li, L. Niu, Carbon nanotube/gold nanoparticles/polyethylenimine-functionalized ionic liquid thin film composites for glucose biosensing, *Biosens. Bioelectron.* 24 (2008) 945–950. doi:10.1016/j.bios.2008.07.057.
- [65] D. Hua, S. Japip, K.Y. Wang, T.-S. Chung, Green Design of Poly(*m* - Phenylene Isophthalamide)-based thin-film composite membranes for organic solvent nanofiltration and concentrating lecithin in hexane, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 6 (2018) 10696–10705. doi:10.1021/acssuschemeng.8b02021.
- [66] Y. Tsuyuki, H. Takai, Y. Fukunaka, T. Homma, Formation of Si thin films by electrodeposition in ionic liquids for solar cell applications, *Jpn. J. Appl. Phys.* 57 (2018) 08RB11. doi:10.7567/JJAP.57.08RB11.
- [67] A. Vallas, T. Chouliaras, V. Deimede, T. Ioannides, J. Kallitsis, New pyridinium type poly(ionic liquids) as membranes for  $\text{CO}_2$  Separation, *Polymers.* 10 (2018) 912. doi:10.3390/polym10080912.
- [68] D. Nikolaeva, I. Azcune, M. Tanczyk, K. Warmuzinski, M. Jaschik, M. Sandru, P.I. Dahl, A. Genua, S. Loïs, E. Sheridan, A. Fuoco, I.F.J. Vankelecom, The performance of affordable and stable cellulose-based poly-ionic membranes in  $\text{CO}_2/\text{N}_2$  and  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  gas separation, *J. Membr. Sci.* 564 (2018) 552–561. doi:10.1016/j.memsci.2018.07.057.
- [69] G. Lasarte-Aragonés, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Nanoparticle-based microextraction techniques in bioanalysis, *Bioanalysis.* 3 (2011) 2533–2548. doi:10.4155/bio.11.257.



- [70] M. Valcárcel, S. Cárdenas, B.M. Simonet, Y. Moliner-Martínez, R. Lucena, Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes, *TrAC Trends Anal. Chem.* 27 (2008) 34–43. doi:10.1016/j.trac.2007.10.012.
- [71] S. Iijima, Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature*. 354 (1991) 56–58.
- [72] Y. Cai, J. Guibin, Z. Qingxiang, Multiwalled carbon nanotubes as a solid-phase extraction adsorbent for the determination of bisphenol A, 4-n-nonylphenol, and 4-tert-octylphenol., 75 (n.d.).
- [73] S. Iijima, M. Yudasaka, R. Yamada, S. Bandow, K. Suenaga, F. Kokai, K. Takahashi, Nano-aggregates of single-walled graphitic carbon nano-horns, *Chem. Phys. Lett.* 309 (1999) 165–170. doi:10.1016/S0009-2614(99)00642-9.
- [74] M. Gallego, Y. Petit de Pena, M. Valcarcel, Fullerenes as sorbent materials for metal preconcentration, *Anal. Chem.* 66 (1994) 4074–4078. doi:10.1021/ac00094a033.
- [75] K.S. Novoselov, Electric field effect in atomically thin carbon films, *Science*. 306 (2004) 666–669. doi:10.1126/science.1102896.
- [76] W. Cai, Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology, *Nanotechnol. Sci. Appl. Volume 1* (2008) 17–32. doi:10.2147/NSA.S3788.
- [77] S. Eustis, M.A. El-Sayed, Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes, *Chem Soc Rev.* 35 (2006) 209–217. doi:10.1039/B514191E.
- [78] S.-J. Chen, H.-T. Chang, Nile Red-Adsorbed Gold nanoparticles for selective determination of thiols based on energy transfer and aggregation, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3727–3734. doi:10.1021/ac049787s.

- [79] Á.I. López-Lorente, M. Valcárcel, Analytical nanoscience and nanotechnology, in: *Compr. Anal. Chem.*, Elsevier, 2014: pp. 3–35. doi:10.1016/B978-0-444-63285-2.00001-8.
- [80] R. Lucena, B.M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Potential of nanoparticles in sample preparation, *J. Chromatogr. A*. 1218 (2011) 620–637. doi:10.1016/j.chroma.2010.10.069.
- [81] J.-H. Lin, Z.-H. Wu, W.-L. Tseng, Extraction of environmental pollutants using magnetic nanomaterials, *Anal. Methods*. 2 (2010) 1874. doi:10.1039/c0ay00575d.
- [82] M.T. García-Valverde, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Titanium-dioxide nanotubes as sorbents in (micro)extraction techniques, *TrAC Trends Anal. Chem.* 62 (2014) 37–45. doi:10.1016/j.trac.2014.06.015.
- [83] M. Thomas, T.S. Natarajan, M.U.D. Sheikh, M. Bano, F. Khan, Self-organized graphene oxide and TiO<sub>2</sub> nanoparticles incorporated alginate/carboxymethyl cellulose nanocomposites with efficient photocatalytic activity under direct sunlight, *J. Photochem. Photobiol. Chem.* 346 (2017) 113–125. doi:10.1016/j.jphotochem.2017.05.037.
- [84] E.M. Reyes-Gallardo, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Polymer–nanoparticles composites in bioanalytical sample preparation, *Bioanalysis*. 7 (2015) 1723–1730. doi:10.4155/bio.15.93.
- [85] A.A. Matin, P. Biparva, H. Amanzadeh, K. Farhadi, Zinc/Aluminum layered double hydroxide–titanium dioxide composite nanosheet film as novel solid phase microextraction fiber for the gas chromatographic determination of valproic acid, *Talanta*. 103 (2013) 207–213. doi:10.1016/j.talanta.2012.10.034.
- [86] A. Ghiasvand, S. Koonani, F. Yazdankhah, S. Farhadi, A comparison study on a sulfonated graphene-polyaniline nanocomposite coated fiber for

analysis of nicotine in solid samples through the traditional and vacuum-assisted HS-SPME, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 149 (2018) 271–277. doi:10.1016/j.jpba.2017.11.020.

[87] J. Huang, H. Deng, D. Song, H. Xu, Electrospun polystyrene/graphene nanofiber film as a novel adsorbent of thin film microextraction for extraction of aldehydes in human exhaled breath condensates, *Anal. Chim. Acta.* 878 (2015) 102–108. doi:10.1016/j.aca.2015.03.053.

[88] Z. Liu, Z. Yan, L. Bai, Electrospun nanofiber templated assembly of hybrid nanoparticles, *RSC Adv.* 8 (2018) 9344–9352. doi:10.1039/C8RA00665B.

[89] Z. Ayazi, F. Shekari Esfahlan, Z. Monsef Khoshhesab, ZnO nanoparticles doped polyamide nanocomposite coated on cellulose paper as a novel sorbent for ultrasound-assisted thin film microextraction of organophosphorous pesticides in aqueous samples, *Anal. Methods.* 10 (2018) 3043–3051. doi:10.1039/C8AY00934A.

[90] T. Saito, A. Isogai, Ion-exchange behavior of carboxylate groups in fibrous cellulose oxidized by the TEMPO-mediated system, *Carbohydr. Polym.* 61 (2005) 183–190. doi:10.1016/j.carbpol.2005.04.009.

[91] D.L. Nelson, M.M. Cox, C.M. Cuchillo, *Lehninger: Principios de bioquímica*, Omega, Barcelona, 2008.

[92] M. Saraji, B. Farajmand, Chemically modified cellulose paper as a thin film microextraction phase, *J. Chromatogr. A.* 1314 (2013) 24–30. doi:10.1016/j.chroma.2013.09.018.

[93] R.R. Navarro, K. Tatsumi, K. Sumi, M. Matsumura, Role of anions on heavy metal sorption of a cellulose modified with poly(glycidyl methacrylate)

and polyethyleneimine, *Water Res.* 35 (2001) 2724–2730. doi:10.1016/S0043-1354(00)00546-7.

[94] T. Zargar, T. Khayamian, M.T. Jafari, Immobilized aptamer paper spray ionization source for ion mobility spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 132 (2017) 232–237. doi:10.1016/j.jpba.2016.10.014.

[95] M. Magiati, C.I. Kyriakopoulou, D.P. Kalogianni, Immobilization of bovine serum albumin on polytetrafluoroethylene for application as a potential solid support for biosensor development with visual detection, *Anal. Lett.* 51 (2018) 2050–2061. doi:10.1080/00032719.2017.1402021.

[96] S. Jung, B. Angerer, F. Löscher, S. Niehren, J. Winkle, S. Seeger, Biotin-functionalized cellulose-based monolayers as sensitive interfaces for the detection of single molecules, *ChemBioChem.* 7 (2006) 900–903. doi:10.1002/cbic.200500338.

[97] A. Miyagawa, M.C.Z. Kasuya, K. Hatanaka, Immobilization of glycoconjugate polymers on cellulose membrane for affinity separation, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 79 (2006) 348–356. doi:10.1246/bcsj.79.348.

[98] Q. Wei, F. Zhang, J. Li, B. Li, C. Zhao, Oxidant-induced dopamine polymerization for multifunctional coatings, *Polym. Chem.* 1 (2010) 1430. doi:10.1039/c0py00215a.

[99] C. Ye, Y. Wu, Z. Wang, Modification of cellulose paper with polydopamine as a thin film microextraction phase for detection of nitrophenols in oil samples, *RSC Adv.* 6 (2016) 9066–9071. doi:10.1039/C5RA23232E.

[100] Y. Culing, L. Chang, W. Shen, W. Zhike, Investigation of 1-dodecylimidazolium modified filter papers as a thin-film microextraction phase for the preconcentration of bisphenol A from plant oil samples, *Analytical Sciences.* 33 (2017) 229–234.

- [101] F. Galán-Cano, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Ionic liquid based *in situ* solvent formation microextraction coupled to thermal desorption for chlorophenols determination in waters by gas chromatography/mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1229 (2012) 48–54. doi:10.1016/j.chroma.2012.01.026.
- [102] R. Narayanan, T. Pradeep, Probing coordination complexes by carbon nanotube-assisted low-voltage paper spray ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.* 89 (2017) 10696–10701. doi:10.1021/acs.analchem.7b01129.
- [103] H. Wang, J. Liu, R.G. Cooks, Z. Ouyang, Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry, *Angew. Chem.* 122 (2010) 889–892. doi:10.1002/ange.200906314.
- [104] J. Liu, H. Wang, N.E. Manicke, J.-M. Lin, R.G. Cooks, Z. Ouyang, Development, characterization, and application of paper spray ionization, *Anal. Chem.* 82 (2010) 2463–2471. doi:10.1021/ac902854g.
- [105] C. Zhang, N.E. Manicke, Development of a paper spray mass spectrometry cartridge with integrated solid phase extraction for bioanalysis, *Anal. Chem.* 87 (2015) 6212–6219. doi:10.1021/acs.analchem.5b00884.
- [106] L. Fang, J. Deng, Y. Yu, Y. Yang, X. Wang, H. Liu, T. Luan, Coupling liquid-phase microextraction with paper spray for rapid analysis of malachite green, crystal violet and their metabolites in complex samples using mass spectrometry, *Anal. Methods.* 8 (2016) 6651–6656. doi:10.1039/C6AY01466F.
- [107] F.J. Lara-Ortega, M. Beneito-Cambra, J. Robles-Molina, J.F. García-Reyes, B. Gilbert-López, A. Molina-Díaz, Direct olive oil analysis by mass spectrometry: A comparison of different ambient ionization methods, *Talanta.* 180 (2018) 168–175. doi:10.1016/j.talanta.2017.12.027.

- [108] R.D. Espy, S.F. Teunissen, N.E. Manicke, Y. Ren, Z. Ouyang, A. van Asten, R.G. Cooks, Paper spray and extraction spray mass spectrometry for the direct and simultaneous quantification of eight drugs of abuse in whole blood, *Anal. Chem.* 86 (2014) 7712–7718. doi:10.1021/ac5016408.
- [109] E.S. Dhummakupt, P.M. Mach, D. Carmany, P.S. Demond, T.S. Moran, T. Connell, H.S. Wylie, N.E. Manicke, J.M. Nilles, T. Glaros, Direct analysis of aerosolized chemical warfare simulants captured on a modified glass-based substrate by “Paper-Spray” ionization, *Anal. Chem.* 89 (2017) 10866–10872. doi:10.1021/acs.analchem.7b02530.



# **BLOQUE II**



**Materiales poliméricos soportados  
en papel**





La microextracción en fase sólida es una técnica de tratamiento de muestra en la que se emplea poca cantidad de sorbente. La microextracción clásica, propuesta por Pawliszyn, utiliza fibras con un recubrimiento polimérico como fase sorbente<sup>1</sup>. La microextracción en fase sólida posee las ventajas de la extracción en fase sólida y soluciona los problemas de esta. Algunas de las ventajas ésta son la simplicidad, la reducción o eliminación de disolventes orgánicos durante el procedimiento, la preconcentración del analito y una amplia gama de materiales potencialmente utilizables como recubrimiento<sup>2-5</sup>.

Esta técnica posee diferentes variantes, entre las que pueden destacarse la microextracción en película delgada o *thin film microextraction*. Esta técnica, que se considera en el **Bloque II**, consiste en la sustitución de la clásica fibra por un soporte plano donde se encuentra la fase sorbente<sup>6</sup>. Esta modalidad permite realizar muestreos *in situ*<sup>7</sup>, es fácilmente adaptable a diferentes procedimientos de extracción<sup>8</sup>, se puede usar en distintos dispositivos<sup>9</sup> y permite el acoplamiento con diferentes técnicas instrumentales<sup>10</sup>.

En este bloque de la presente Tesis Doctoral se presentan formatos planos con diferentes recubrimientos poliméricos: por una parte, poliestireno (**Capítulo 1**), obtenido a partir del reciclaje de envases comerciales y por otra, líquidos iónicos poliméricos (**Capítulo 2**) cuyo procedimiento de síntesis elimina por completo el uso de disolventes orgánicos. Sendos trabajos están enmarcados dentro de los principios de la Química Verde.

En el **Capítulo 1**, los soportes obtenidos se caracterizaron por microscopía de barrido y espectroscopía de infrarrojo. Además se ha demostrado el potencial bioanalítico del soporte mediante la determinación de metadona en muestras de orina.

Por otra parte, en el **Capítulo 2** la caracterización de la fase sorbente se llevó a cabo mediante microscopía de barrido, espectroscopía de infrarrojo y MALDI-TOF, donde se pudo corroborar la inmovilización del líquido iónico sobre la superficie del soporte, demostrando así que mediante un procedimiento de síntesis simple y *ecofriendly* se puede obtener un material con un gran potencial analítico.

<sup>1</sup> C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 62 (1990) 2145–2148.

<sup>2</sup> M.M. Moein, A. Abdel-Rehim, M. Abdel-Rehim, TrAC Trends Anal. Chem. 67 (2015) 34–44.

<sup>3</sup> E. Gionfriddo, É.A. Souza-Silva, T.D. Ho, J.L. Anderson, J. Pawliszyn, Talanta. 188 (2018) 522–530.

<sup>4</sup> J. Pang, M. Mei, D. Yuan, X. Huang, Talanta. 184 (2018) 411–417.

<sup>5</sup> S. Hamidi, N. Alipour-Ghorbani, A. Hamidi, Crit. Rev. Anal. Chem. 48 (2018) 239–251.

<sup>6</sup> I. Bruheim, X. Liu, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 75 (2003) 1002–1010.

<sup>7</sup> Z. Qin, L. Bragg, G. Ouyang, V.H. Niri, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A. 1216 (2009)

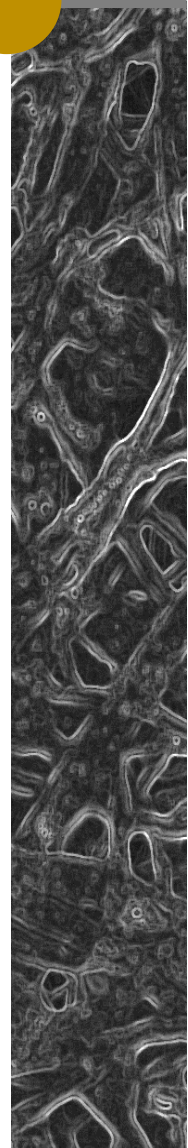
<sup>8</sup> I.-Y. Eom, S. Risticvic, J. Pawliszyn, Anal. Chim. Acta. 716 (2012) 2–10.

<sup>9</sup> F.S. Mirmaghi, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 84 (2012) 8301–8309.

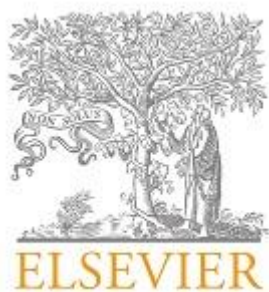
<sup>10</sup> N. Strittmatter, R.-A. Düring, Z. Takáts, The Analyst. 137 (2012) 4037.

# Capítulo 1

*Paper supported polystyrene membranes for  
thin film microextraction*





**Microchemical Journal**

133 (2017) 90–95

**Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction**

J. Ríos-Gómez, R. Lucena, S. Cárdenas

*Department of Analytical Chemistry, Institute of Fine Chemistry and Nanochemistry, Marie Curie Building, Campus of Rabanales, University of Córdoba, 14071 Córdoba, Spain*

Thin film microextraction (TFME), which is based on the retention of target analytes in a thin polymeric coating, is a powerful sample treatment technique with multiple applications. This article describes an easy and cheap procedure to synthesize polystyrene membranes which can be used as sorptive phases in TFME. The polymeric film is formed by the simple deposition of a thin polymeric layer over a conventional laboratory paper that acts as inert support. The synthesis has been studied and the resulting material has been characterized by infrared spectroscopy and scanning electron microscopy. The thin film has been analytically evaluated using the determination of methadone in urine samples by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) as proof of concept problem. A pipette tip manifold, that allows the confinement of the film while permits the sample and solvents handling, has been designed for the extraction. The developed method provides a good linearity ( $R^2=0.9986$ ) and sensitivity (limit of

quantification of 10 µg/L), especially if the low sample volume (200 µL) used is considered. The precision (relative standard deviation better than 14%) and relative recovery values (average value of 106% for five independent samples) demonstrated the potential of the approach.

**Keywords:** Polymer, paper, thin film, microextraction, methadone, urine, gas, chromatography–mass spectrometry.

## 1. Introduction

Membranes are widely used in different application fields due to their special properties [1,2]. They present a high superficial area which enhances the mass transference and the extraction kinetics. Moreover, their great variability as well as potential modification with, for example, nanoparticles (NPs) [3,4] make them versatile materials. In addition, the membrane porosity, which plays a key role in the size exclusion separation, can be also ad-hoc modified [5]. Polymeric membranes have been also extensively used in Analytical Chemistry as filters, supports, physical barriers and extraction phases [6]. Polypropylene hollow fibers have been essential for the development of liquid phase microextraction (LPME) techniques where they play a double role [7,8]. On the one hand, they act as physical barriers between phases increasing the selectivity (as large biomolecules cannot be extracted due to size exclusion) and stabilizing the acceptor phase. On the other hand, these membranes can be impregnated with an appropriate organic solvent (supported liquid membranes) which improves even more the extraction selectivity. The mechanical strength and their stability under electric fields have allowed the development of new LPME techniques in the last decade [9]. Despite the potential of hollow membranes, flat membranes have been also proposed for LPME [10,11]. Some of these approaches, like parallel artificial liquid membrane extraction, have opened a door to LPME automation permitting its application for high sample throughput analysis [12,13]. Polymeric materials have been found

extremely useful in solid phase microextraction (SPME) and related techniques due to their extraction capacity, involving different interaction chemistries, and their thermal stability [14,15]. Although they are usually presented in the form of coatings of defined thickness, polymeric membranes and thin films have attracted much attention in the last years as competitive phases [16,17]. Indeed hollow fibers, naked, [18] chemically modified [19] or decorated with nanoparticles (NPs) [20,21] can substitute conventional SPME fibers. Moreover, flat membranes or films have given rise to new SPME techniques with great potential [22–25]. Commercially available membranes cover a wide range of chemistries that can be exploited in this context but lab-made membranes are under continuous evolution since they provide a higher versatility allowing the proper selection of the membrane (composition, format) for a defined analytical problem. The reported methods for the lab made membranes can be divided in two main groups depending on the role that the membrane, itself, plays: active sorptive phase or support. Within the first group, electrospinning is the most remarkable one [26] as it can provide in a simple way polymeric films consisting of naked fibers in the micro to nanometric range [27] with special orientation, random or aligned. Special dopants (e.g. NPs) [28–30] can be also included in the polymeric network to improve their properties. Although spin coating procedure can be in theory used for the same purpose, it has been practically applied in a lesser extent to fabricate, for group of procedures, extraction membranes are synthesized immobilizing the extracting phase on an inert and porous flat support. Fabric phases, proposed by Kabir and Furton, [32] that consists of fabrics of different nature (cotton/polyester fabric substrates) chemically modified by sol-gel technology [33] to anchor the sorptive phase can be highlighted in this context [34,35]. The use of common filter paper as support for a polymeric coating, which is in-surface polymerization using the appropriate monomers, has been proposed [36,37]. In fact, the polymeric modification is usually used in the industrial realm to improve the properties, in particular the mechanic ones, of raw paper [38]. In



addition, paper has been used as electrospray support for direct analysis of complex samples by MS. [39] In this article, a simple and cheap procedure to synthesized polystyrene (PS) films over lab-paper support, hereafter PS membranes, is presented. The synthesis does not require any polymerization of monomers since the polymer is physically coated over the paper playing with the solvent evaporation. In addition, the procedure uses polystyrene coming from used commercial packages reducing the negative environmental impact of these plastics. The PS membrane has been characterized and practically evaluated in the microextraction context. The determination of methadone in urine samples has been chosen as model analytical problem.

## **2. Experimental section**

### *2.1. Reagents and samples*

All reagents were of analytical grade or better. Methadone was supplied by Sigma-Aldrich (Madrid, Spain). A stock standard solution was prepared in methanol (Panreac, Barcelona, Spain) at a concentration of 1 g/L. The stock was stored at 4 °C in the dark. Working solutions were prepared by the rigorous dilution of the stock in methanol, hexane (Panreac) or Milli-Q water (Millipore Corp., Madrid, Spain), as required. PS was obtained from commercial yogurt containers. After being washed (water and methanol), dried and cut in small pieces, PS was dissolved in chloroform (Panreac) at a defined concentration depending on the final use. Lab paper was dipped into these chloroformic solutions for the fabrication of the PS membranes. The purity of recycled PS is discussed in supplementary information (Fig. S1). Blank urine samples were collected from healthy volunteers. The samples were pH adjusted (pH 10) and centrifuged before their analysis. No dilution was required.

## 2.2. *Synthesis of PS membranes*

Several membranes containing different percentages of polystyrene were fabricated. The best one was synthesized as follows. A segment of filter paper ( $3 \times 1$  cm) is dipped six times into a 3% w/v chloroformic solution of PS. After each dipping the membrane is completely dried. In addition, to achieve a more homogeneous distribution of the polymer over the substrate, the dipping direction is changed after each deposition.

## 2.3. *Characterization of PS membranes*

The physical/chemical characterization of the membranes was carried out by scanning electron microscopy (SEM) and infrared spectroscopy (IR). SEM micrographs of PS membranes were taken using a JEOL JSM 6300 microscope in the Central Service for Research Support (SCAI) of the University of Córdoba. Attenuated total reflection (ATR) IR spectra were acquired in a Bruker Tensor 37 FT-IR spectrometer. The instrument was equipped with a three internal reflections diamond ATR cell and a deuterated triglycine sulfate (DTGS) detector. Spectra were collected between  $5000$  and  $600\text{ cm}^{-1}$  at a  $4\text{ cm}^{-1}$  resolution with 64 coadded scans each. Data collection was done using OPUS software (Bruker, Ettlingen, Germany).

## 2.4. *Batch sorption assays*

Direct immersion extraction experiments were done incubating segments of  $0.5\text{ cm}^2$  of each membrane with 1 mL of an alkaline aqueous solution (pH 10) containing the analyte at 1 mg/L. The vial was agitated for 30 min in a vortex and the aqueous phase was analyzed before and after the incubation. Liquid chromatography coupled to an UV detector was used as instrumental technique. HPLC analyses were performed in a HP1100 series liquid chromatograph (Agilent, Palo Alto, CA) equipped with a binary high-pressure pump, an autosampler and a single wavelength photometer (HP1100 series). Data analysis

was performed using HP ChemStation software. Chromatographic separation was done on a LiChrosorb C18 (4.6 mm×250 mm) column (Análisis Vínicos, Tomelloso, Spain), using water containing 0.1% of trifluoroacetic acid (solvent A) and methanol (solvent B) as mobile phase components. The separation follows an isocratic program (70% B). The injection volume was 10 µL, the flow rate was maintained at 1 mL/min and the analyte was monitored at 205 nm. Peak area was used as quantitative parameter.

### *2.5. Microextraction procedure*

Thin film microextraction was developed in a conventional pipette tip where a rolled segment of 0.5 cm<sup>2</sup> of membrane is located (Fig. S2) and mechanically fixed. This system allows the easy handling of samples and solutions reducing the operator contact with the biological samples. A fresh membrane was used for each extraction due to the easy synthesis and the complexity of the sample, thus avoiding any carry-over effect. The extraction process involves several steps. First of all, 100 µL of methanol and 100 µL of an alkaline aqueous solution are sequentially passed through the membrane for conditioning. Then, 200 µL of aqueous standard/urine sample (pH adjusted to 10) are aspirated into the pipette tip using 20 strokes (the solution is pulled into and ejected from the pipette tip 20 times) to maximize the interaction with the polymeric phase. Once the isolation of the analyte is finished, the membrane is washed with 200 µL of an alkaline aqueous solution (pH 10) to remove matrix components. Finally, the analyte is eluted with 100 µL of hexane. 2 µL of the extract are injected in the gas chromatograph injector for analysis. GC/MS analyses were carried out on an HP6890 gas chromatograph equipped with an HP5973 (Agilent, Palo Alto, CA) mass spectrometric detector based on a quadrupole analyzer and an electron photomultiplier detector. System control was achieved with an HP1701CA MS ChemStation (Agilent Technologies). Gas chromatographic separations were performed on a fused silica capillary column (30 m × 0.25 mm i.d.) coated with

5% phenylmethyl-polysiloxane (film thickness 0.25  $\mu\text{m}$ ) (Supelco, Madrid, Spain). The column temperature program was as follows: 3 min at 90  $^{\circ}\text{C}$ , raised up to 280  $^{\circ}\text{C}$  at 30  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , and kept finally at 280  $^{\circ}\text{C}$  for 2 min. In these conditions, the retention time of the analyte was 9.52 min. The quadrupole mass spectrometer detector was operated in selected ion monitoring measuring the intensity of the fragment ions 72 and 165. Electron impact ionization (70 eV) was used for analyte fragmentation. The MS source and quadrupole temperatures were maintained at 250 and 150  $^{\circ}\text{C}$ , respectively. The peak areas of the compound were used for quantification. A column split ratio of 1:10 was selected.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Synthesis and characterization of PS membranes

The feasibility of using lab paper as support of a polymeric membrane has been tested in this article. The hypothesis has been evaluated using polystyrene, dissolved in chloroform, as polymer. First of all, a segment of lab paper ( $3 \times 1$  cm) was dipped 5 times into the solution (containing a 1% w/v of PS) including a drying step between each dipping. The resulting material was analyzed by FTIR in order to assess the efficiency of the coating. The results are shown in Fig. 1 where the spectrum obtained for the polystyrene, raw filter paper and the resulting membrane are shown. Polystyrene has a rich and well defined IR absorption spectrum (Fig. 1A). Among all the bands, those obtained at 696  $\text{cm}^{-1}$  and 756  $\text{cm}^{-1}$  (out-of-plane C-H bending bands), 1452  $\text{cm}^{-1}$  and 1492  $\text{cm}^{-1}$  (C-C stretching vibrations in the aromatic ring), and the regions immediately below (asymmetric and symmetric stretching vibrations of methylene groups) and above (aromatic C-H stretching vibrations) 3000  $\text{cm}^{-1}$  can be highlighted. Lab paper presents characteristics bands (Fig. 1B) at 3334  $\text{cm}^{-1}$  (OH stretching), 2897  $\text{cm}^{-1}$  (CH symmetrical stretching), 1161  $\text{cm}^{-1}$  (asymmetrical C-O-C stretching) and an intense absorption in the range of 1033  $\text{cm}^{-1}$  (C-O stretching). As it is observed in the Fig. 1C, the film shares absorption bands from PS and lab paper which

indicates the success of the synthesis. IR spectroscopy, working under the ATR mode, was also used to monitor the film synthesis. The absorption intensity in this mode depends on several parameters, the pressure applied to the sample during the analysis being the main one. As this pressure may vary between analyses, the spectrum intensity may be different even for repeated measurements of the same sample. To avoid this limitation, the spectra were normalized before being treated and a factor,  $F$ , was defined using a PS bands ( $696\text{ cm}^{-1}$ ) and a paper band ( $1033\text{ cm}^{-1}$ ) as reference.

$$F = \frac{(Abs)_{696\text{ cm}^{-1}}}{(Abs)_{1033\text{ cm}^{-1}}}$$

This parameter informs about the PS coverage level and it is not influenced by the different intensity of the ATR spectra.  $F$  values for pure PS and raw lab paper resulted to be 16.5 and 0.48, respectively. The homogeneous distribution of PS over the paper is desirable. In a first approach, the paper is immersed in the PS solution (0.5%) four times always in the same direction. The study of the IR spectra acquired at different spots along the paper (Fig. S3A) showed great variability on the  $F$  values, suggesting a heterogeneous distribution of PS (RSD of the values = 33%). The  $F$  values were high (high PS concentration) in the lower part of the film while the upper part presents  $F$  values similar to that provided by raw paper (absence of PS). This accumulation is due to the gravity since the PS solution moves downstream as the chloroform evaporation is not instantaneous. This negative effect can be really minimized if the dipping direction is subsequently alternated in each immersion. Fig. S3B indicates how the  $F$  varied in such conditions showing a more homogeneous distribution (RSD of the values = 3.6%) of PS over the film. Therefore this second approach was selected for further synthesis.



should be given to the small dots over the membrane surface which may be formed during the solvent evaporation.

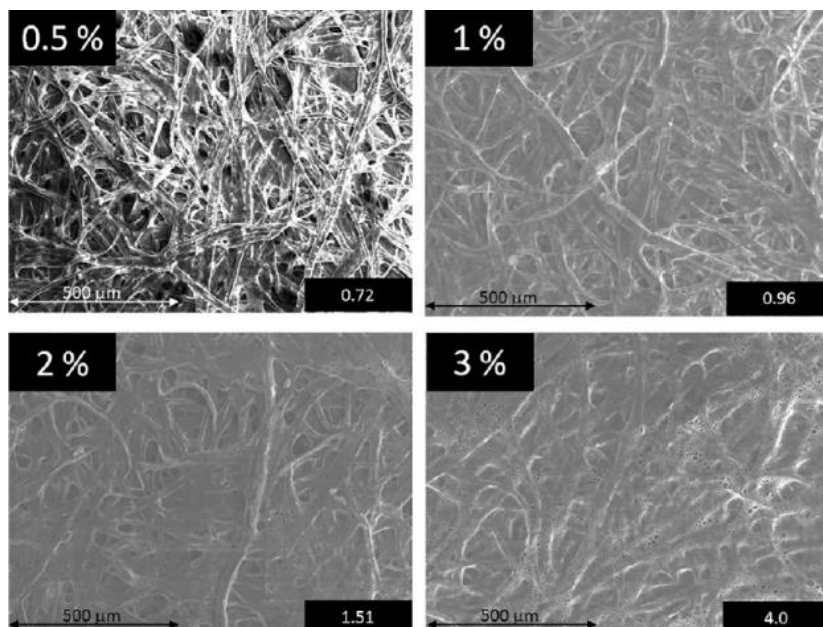


Fig. 2. Scanning electron microscopy pictures of membranes synthesized using a different concentration of polystyrene in the precursor solution. The average F value (calculated from three independent membranes analyzed at 8 different points) is shown in the bottom right corner of each picture.

### 3.2. Analytical evaluation of the PS membranes under the thin film microextraction format

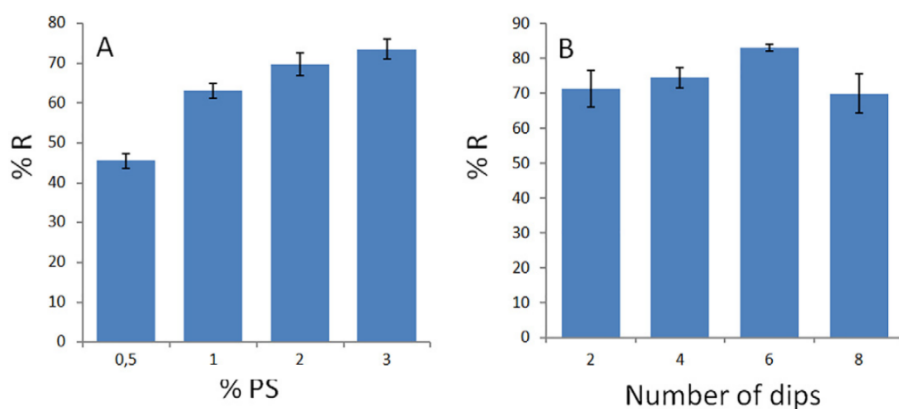
The determination of methadone in urine was selected as proof of concept demonstration of the analytical potential of PS membranes. In this sense, a pipette tip manifold (shown in Fig. S2) was designed to develop a thin film microextraction procedure. The pipette tip allows the confinement of the membrane during the extraction (it is fixed to the narrowest part of the tip) and

the easy handling of low volumes of sample and solvents. In this proof of concept demonstration, some variables values were a priori selected. Therefore, the sample volume was fixed to 200  $\mu\text{L}$  as this is the maximum value affordable by the selected tip. According to the octanol water partition coefficient of methadone, pH 10 was selected as the best value to boost the hydrophobic interaction with the PS membrane. Hexane was selected as the most appropriate eluent on account of its better chromatographic performance. 100  $\mu\text{L}$  of eluent was selected in order to completely cover the 0.5  $\text{cm}^2$  membrane used in the extractions. Starting from these initial conditions, the number of sample strokes (number of aspiration and ejection cycles), which is particularly important in this manifold, was studied in depth using a fresh membrane in each case. For this purpose, an aqueous standard solution containing the analyte at 500  $\mu\text{g/L}$  was aspirated several times (from 1 to 20) with the pipette tip microextraction system. After the aspiration/ejection cycles, the membranes were washed with an aqueous solution (pH 10) and dried with air (3 additional strokes) before being eluted with 100  $\mu\text{L}$  of hexane. As it can be observed in Fig. 5, the analytical signal increases from 1 to 5 strokes while the signal does not increase significantly for higher values. This fact can be ascribed to the efficient isolation of the target compound on the PS phase. In addition, the precision values were acceptable taking into account that the pipette was manually operated. To assess a good extraction of the target analytes, 20 strokes was selected for further studies.

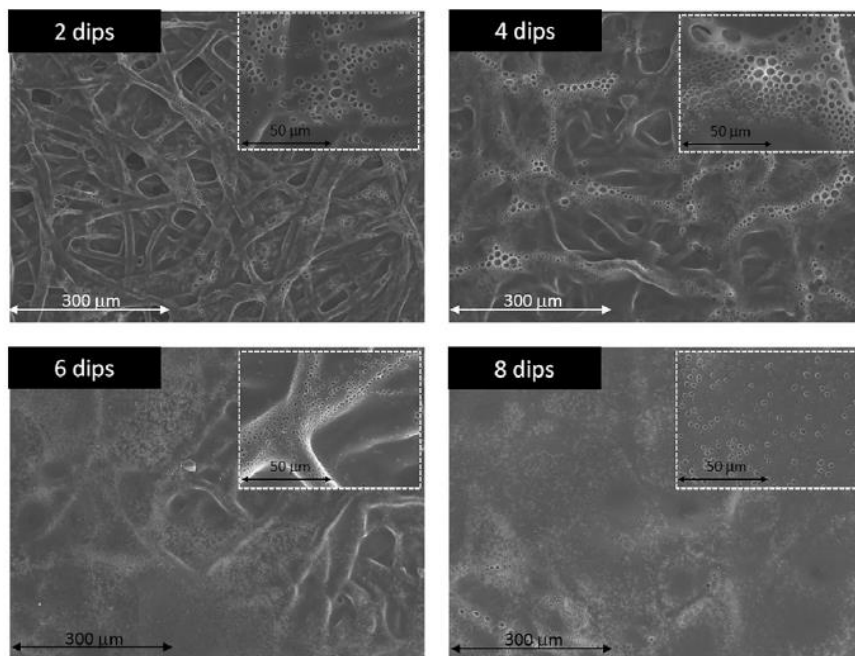
Finally, two calibration graphs were constructed (under the best conditions presented in the experimental section) by extracting in triplicate seven aqueous standards (ex-matrix calibration) and seven blank samples (in-matrix calibration) containing the analyte in the range from 10 to 1000  $\mu\text{g/L}$ . Both calibration curves showed a different slope indicating a matrix effect on the extraction. In this case, the higher ionic strength of the samples as regards aqueous standards is behind the observed behavior. As it was experimentally confirmed, ionic strength



produces a negative effect on the extraction of the target compound as it increases the viscosity of the sample reducing the mass transference kinetics. However, the in-matrix calibration graph provided a good linearity ( $R^2 = 0.9986$ ) and fitting for real samples since the analysis of five independent blank samples spiked at 100  $\mu\text{g/L}$  provided an average relative recovery of 106% with an associate relative standard deviation (RSD) of 14%, which is higher than that obtained for standards (better than 7.4%). Limits of detection and quantification, which were calculated for a signal to noise ratio of 3 and 10 respectively, resulted to be 3  $\mu\text{g/L}$  and 10  $\mu\text{g/L}$ . These values are acceptable if the sample volume (200  $\mu\text{L}$ ) and eluent volume (100  $\mu\text{L}$ ) are considered.



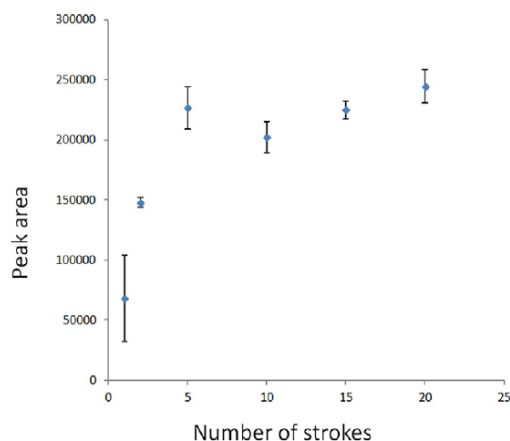
*Fig. 3. Evolution of the extraction recovery with (A) the percentage of polystyrene in the precursor solution and (B) the number of dips used during the synthesis.*



*Fig. 4. Scanning electron microscopy pictures of membranes synthesized from a 3% w/v polystyrene solution using different dips. A more detailed view of the membranes is shown in the upper right panel.*

#### 4. Conclusions

This article describes the in-lab preparation of paper supported polystyrene membranes and evaluates their potential as sorptive media in thin film microextraction. The proposed synthesis is simple, low-cost, it meets some of the green chemistry principles (as it reuses commercial plastic residues) and it produces homogeneously coated membranes.



*Fig. 5. Evolution of the chromatographic peak area with the number of strokes used for processing 200  $\mu$ L of an aqueous standard of methadone at 500  $\mu$ g/L.*

The extraction performance of the PS membranes has been evaluated in a pipette tip device using the determination of methadone in urine as model analytical problem. The membrane is rolled up and adjusted to the tip without any additional modification allowing its simple confinement during the extraction. In addition, the unit can be adapted to process either limited or large sample volumes by simply varying the micropipette used. The simple and low cost synthesis makes the whole microextraction unit disposable, thus reducing the cross contamination risk and protecting the operator from the direct contact with biological samples. The favorable analytical features obtained after the application of the microextraction procedure to determine methadone in urine samples demonstrated the potential of the paper supported PS membranes in the biological context. Further work will be aimed at evaluating different polymeric phases, including biorecognition, to extend the applicability of the proposed microextraction unit.

**Acknowledgments**

Financial support from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (CTQ2014-52939R) is gratefully acknowledged. J. Ríos Gómez expresses her gratitude for the predoctoral grant (ref FPU13/ 03549) from the Spanish Ministry of Education.

**Appendix A. Supplementary data**

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.026>.

## References

- [1] W.L. Ang, A.W. Mohammad, N. Hilal, C.P. Leo, A review on the applicability of integrated/hybrid membrane processes in water treatment and desalination plants, *Desalination* 363 (2015) 2–18.
- [2] S.S. Shenvi, A.M. Isloor, A.F. Ismail, A review on RO membrane technology: developments and challenges, *Desalination* 368 (2015) 10–26.
- [3] S.A. Aani, C.J. Wright, M.A. Atieh, N. Hilal, Engineering nanocomposite membranes: addressing current challenges and future opportunities, *Desalination* 401 (2017) 1–15, <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2016.08.001>.
- [4] A. Aghigh, V. Alizadeh, H.Y. Wong, M.S. Islam, N. Amiz, M. Zaman, Recent advances in utilization of graphene for filtration and desalination of water: a review, *Desalination* 365 (2015) 389–397.
- [5] Y. Gu, U. Wiesner, Tailoring pore size of graded mesoporous block copolymer membranes: moving from ultrafiltration toward nanofiltration, *Macromolecules* 48 (2015) 6153–6159.
- [6] E. Carasek, J. Merib, Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: a review, *Anal. Chim. Acta* 880 (2015) 8–25.
- [7] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, Liquid–liquid–liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650–2656.
- [8] A. Gjelstad, S. Pedersen-Bjergaard, Perspective: hollow fibre liquid-phase

microextraction — principles, performance, applicability, and future directions, *Sci. Chromatogr.* 5 (2013) 181–189.

[9] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, Electrokinetic migration across artificial liquid membranes. New concept for rapid sample preparation of biological fluids, *J. Chromatogr. A* 1109 (2006) 183–190.

[10] M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Stir membrane liquid–liquid microextraction, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 869–874.

[11] M. Roldán-Pijuán, M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Stir-membrane liquid microextraction for the determination of paracetamol in human saliva samples, *Bioanalysis* 5 (2013) 307–315.

[12] A. Gjelstad, K.E. Rasmussen, M.P. Parmer, S. Pedersen-Bjergaard, Parallel artificial liquid membrane extraction: micro-scale liquid–liquid–liquid extraction in the 96-well format, *Bioanalysis* 5 (2013) 1377–1385.

[13] M. Roldán-Pijuán, S. Pedersen-Bjergaard, A. Gjelstad, Parallel artificial liquid membrane extraction of acidic drugs from human plasma, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 2811–2819.

[14] R.P. Belardi, J. Pawliszyn, The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns, *Water Pollut. Res. J. Can.* 24 (1989) 179–191.

[15] C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers, *Anal. Chem.* 62 (1990) 2145–2148.

- [16] I. Bruheim, X. Liu, J. Pawliszyn, Thin-film microextraction, *Anal. Chem.* 75 (2003) 1002–1010.
- [17] J.J. Grandy, E. Boyacı, J. Pawliszyn, Development of a carbon mesh supported thin film microextraction membrane as a means to lower the detection limits of benchtop and portable GC/MS instrumentation, *Anal. Chem.* 88 (2016) 1760–1767.
- [18] M.A. Farajzadeh, A.A. Matin, Determination of BTEX in water samples with an SPME hollow fiber coated copper wire, *Chromatographia* 68 (2008) 443–446.
- [19] M.A. Golsefidi, Z. Es'haghi, A. Sarafraz-Yazdi, Design, synthesis and evaluation of a molecularly imprinted polymer for hollow fiber–solid phase microextraction of chlorogenic acid in medicinal plants, *J. Chromatogr. A* 1229 (2012) 24–29.
- [20] Z. Es'haghi, M. Ebrahimi, M.-S. Hosseini, Optimization of a novel method for determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in hair and waste water samples by carbon nanotubes reinforced sol–gel based hollow fiber solid phase microextraction and gas chromatography using factorial experimental design, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 3400–3406.
- [21] Y. Yang, J. Chen, Y.-P. Shi, Determination of diethylstilbestrol in milk using carbon nanotube-reinforced hollow fiber solid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography, *Talanta* 97 (2012) 222–228.
- [22] R. Jiang, J. Pawliszyn, Thin-film microextraction offers another geometry for solid phase microextraction, *Trends Anal. Chem.* 39 (2012) 245–253.

- [23] E. Boyaci, C. Sparham, J. Pawliszyn, Thin-film microextraction coupled to LC-ESI-MS/MS for determination of quaternary ammonium compounds in water samples, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 409–420.
- [24] M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Stir membrane extraction: a useful approach for liquid sample pretreatment, *Anal. Chem.* 81 (2009) 8957–8961.
- [25] P. Richter, C. Leiva, C. Choque, A. Giordano, B. Sepúlveda, Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 8598–8602.
- [26] H. Bagheri, O. Rezvani, S. Banihashemi, Core-shell electrospun polybutylene terephthalate/polypyrrole hollow nanofibers for micro-solid phase extraction, *J. Chromatogr. A* 1434 (2016) 19–28.
- [27] Q. Xu, S.-Y. Wu, M. Wang, X.-Y. Yin, Z.-Y. Wen, W.-N. Ge, Z.-Z. Gu, Electrospun nylon6 nanofibrous membrane as SPE adsorbent for the enrichment and determination of three estrogens in environmental water samples, *Chromatographia* 71 (2010) 487–492.
- [28] K. Yoshimatsu, L. Ye, J. Lindberg, I.S. Chronakis, Selective molecular adsorption using electrospun nanofiber affinity membranes, *Biosens. Bioelectron.* 23 (2008) 1208–1215.
- [29] X.M. He, G.T. Zhu, J. Yin, Q. Zhao, B.F. Yuan, Y.Q. Feng, Electrospun polystyrene/oxidized carbon nanotubes film as both sorbent for thin film microextraction and matrix format rix assisted laser desorption/ionization time of-flight mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1351 (2014) 29–36.



- [30] J. Huang, H. Deng, D. Song, H. Xu, Electrospun polystyrene/graphene nanofiber film as a novel adsorbent of thin film microextraction for extraction of aldehydes in human exhaled breath condensates, *Anal. Chim. Acta* 778 (2013) 102–108.
- [31] F.R. Kermani, J. Pawliszyn, Sorbent coated glass wool fabric as a thin film microextraction device, *Anal. Chem.* 84 (2012) 8990–8995.
- [32] A. Kabir, K. G. Furton, Fabric phase sorptive extractor (FPSE), U.S. Patent and Trademark Office, US20140274660 A1, 2014.
- [33] S.L. Chong, D. Wang, J.D. Hayes, B.W. Wilhite, A. Malik, Sol–gel coating technology for the preparation of solid-phase microextraction fibers of enhanced thermal stability, *Anal. Chem.* 69 (1997) 3889–3898.
- [34] M. Roldán-Pijuán, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, A. Kabir, K. Furton, Stir fabric phase sorptive extraction for the determination of triazine herbicides in environmental waters by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1376 (2015) 35–45.
- [35] E. Karageorgou, N. Manousi, V. Samanidou, K. Furton, A. Kabir, Fabric phase sorptive extraction for the fast isolation of sulfonamides residues from raw milk followed by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *Food Chem.* 196 (2016) 428–436.
- [36] M. Saraji, B. Farajmand, Chemically modified cellulose paper as a thin film microextraction phase, *J. Chromatogr. A* 1314 (2013) 24–30.

[37] C. Ye, Y. Wu, Z. Wang, Modification of cellulose paper with polydopamine as a thin film microextraction phase for detection of nitrophenols in oil samples, *RSC Adv.* 6 (2016) 9066–9071.

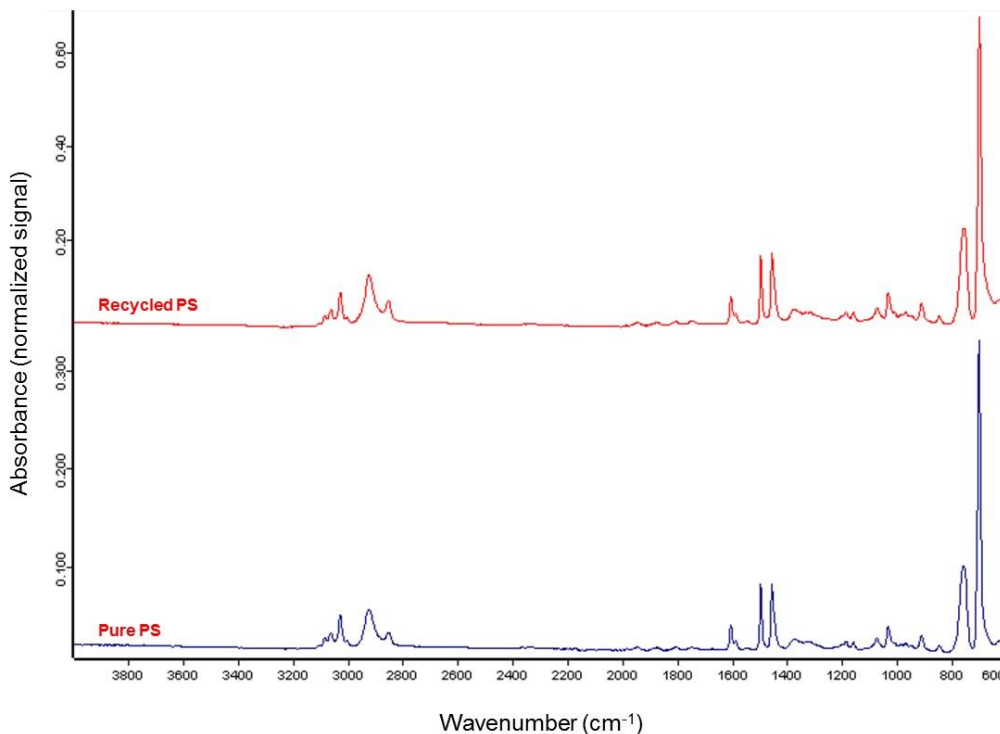
[38] S.M. Pawde, A.R. Deshmukh Kalim, Studies on surface properties of polymeric coated paper material, *J. Appl. Polym. Sci.* 101 (2006) 4167–4171.

[39] H. Wang, J. Liu, R. Graham Cooks, Z. Ouyang, Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 49 (2010) 877–880.

## Electronic Supplementary Information

### 1. Comparison of the IR spectra of commercial and pure PS

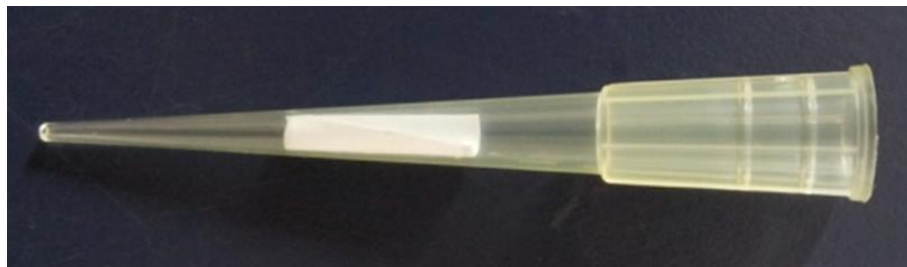
In this article, recycled PS is used as polymeric source. The composition of this material was studied by IR spectroscopy. Figure S1 shows the spectra for recycled and pure PS. As it can be observed, both spectra are comparable which indicates that recycled PS contains a low amount of chemical modifiers. In fact, the analysis of recycled PS spectrum by OPUS software provided an excellent match with the spectrum of pure PS



**Figure S1.** IR spectra of recycled and pure PS

## 2. Microextraction unit

Thin film microextraction was developed in a conventional pipette tip where a rolled segment of  $0.5\text{ cm}^2$  of membrane is located and mechanically fixed as it can be observed in Figure S2.



**Figure S2.** Picture of the pipette tip containing the paper supported polystyrene membrane.

## 3. Characterization of the membranes

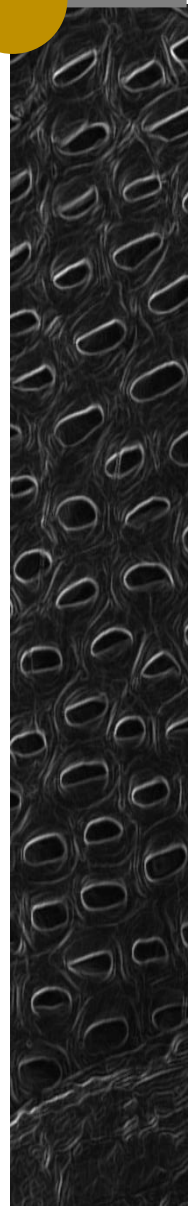


**Figure S3.** Variation of the F value over the membranes depending on the synthetic procedure. (A) The paper is immersed into the PS solution in the same

direction (B) The paper is immersed into the PS solution changing the dipping direction.

## Capítulo 2

*Polymeric ionic liquids in paper based analytical devices*





---

**In progress**

---

**Polymeric ionic liquids in paper-based analytical device**

Julia Ríos-Gómez, Carla Toledo-Neira, Ángela I. López-Lorente, Rafael Lucena  
and Soledad Cárdenas

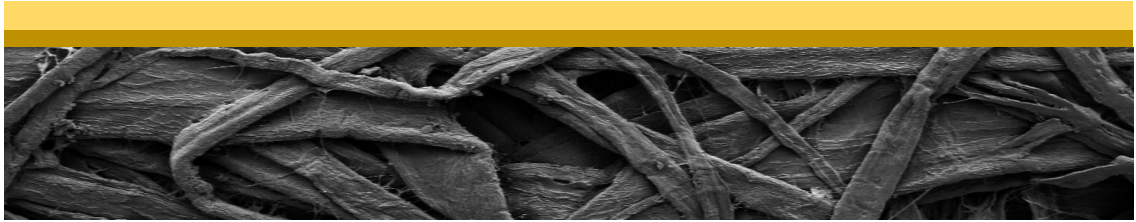
*Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Investigación en  
Química Fina y Nanoquímica IUIQFN, Universidad de Córdoba, Campus de  
Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain.*

Planar sorptive phases are very attractive in the solid phase microextraction context thanks to their high surface to volume ratio that has a clear effect on the extraction kinetics. Also, these planar phases can be easily adapted to instrumental techniques like mass spectrometry for the direct analysis of the analytes. Polymeric ionic liquids (PILs) are sorptive phases extensively used in fiber-based solid phase microextraction due to their inherent characteristics. In this paper, the synthesis of PILs by the simple Radziszewski reaction is studied in detail, and the final immobilization of PIL over paper is optimized. In fact, three different approaches have been checked the optimum one consisting on the curation of PIL over bare paper at 120 °C during 30 min. The preliminary extraction studies demonstrate a relationship between the presence of PIL on the paper and the isolation rate of selected antidepressants which are the model analytes used.





# BLOQUE III



**Materiales *composite***



Los *composites* resultan de la combinación de dos o más materiales de naturaleza diferente y bien definida. Cuando uno de los materiales involucrados se encuentra dentro de la escala nanométrica se habla de *nanocomposite*. La presencia de nanomaterial en el seno del *composite* aporta mejoras al conjunto ya que puede incrementar el área superficial o dotar al *nanocomposite* de propiedades adicionales. El uso de *nanocomposites* en el contexto de la microextracción está muy extendido en la actualidad. Una de las ventajas de este tipo de material es su adaptabilidad a diferentes formatos de microextracción, pudiéndose utilizar en fibras<sup>1</sup>, en dispersión<sup>2</sup> y en *thin film*<sup>3</sup>.

En este bloque de la memoria de Tesis Doctoral se presentan dos soportes planos recubiertos con dos *nanocomposites* diferentes. En el **Capítulo 3** se describe la síntesis de un soporte que consta de una cobertura compuesta por nailon-6 y nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, en el que se explotan las propiedades fotocatalíticas del TiO<sub>2</sub>. Los soportes planos se caracterizaron mediante microscopía de barrido, espectroscopía infrarroja y Raman y análisis termogravimétrico. Los materiales resultantes han demostrado ser útiles para la extracción y posterior fotodegradación de naranja de metilo en muestras de agua.

En el **Capítulo 4** se detalla la síntesis de un soporte cuyo recubrimiento consta de policloruro de vinilo y nanotubos de carbono. En este caso la presencia de nanotubos incrementa la conductividad del material pudiendo establecer un acoplamiento directo con un espectrómetro de masas y desarrollar así la técnica de *paper spray*. Las fases sorbentes se caracterizaron mediante microscopía de barrido. El potencial analítico de dichos soportes se evidencia gracias a la determinación de ketamina en muestras de agua.

<sup>1</sup> A.A. Matin, P. Biparva, H. Amanzadeh, K. Farhadi, Talanta. 103 (2013) 207–213.

<sup>2</sup> E. Reyes-Gallardo, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, J. Chromatogr. A. 1345 (2014) 43–49.

<sup>3</sup> Z. Ayazi, F. Shekari Esfahlan, Z. Monsef Khoshhesab, Anal. Methods. 10 (2018) 3043–3051.

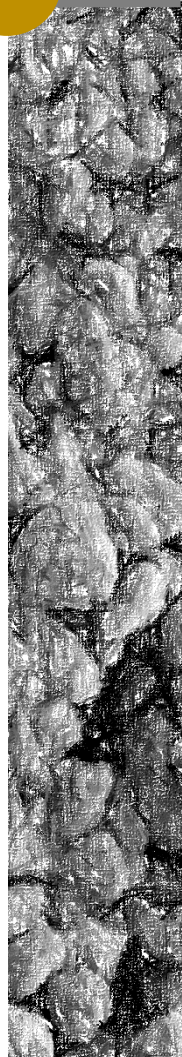
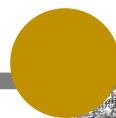


## Capítulo 3

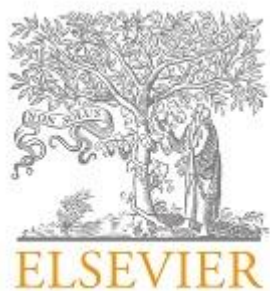
---

*Efficient combined sorption/photobleaching of  
dyes promoted by cellulose/titania-based  
nanocomposite films*

---

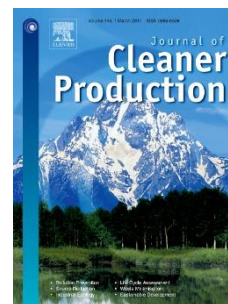






**Journal of Cleaner  
Production**

194 (2018) 167-173



**Efficient combined sorption/photobleaching of dyes promoted by  
cellulose/titania-based nanocomposite films**

Julia Ríos-Gómez <sup>a</sup>, Beatriz Ferrer-Monteagudo <sup>a</sup>, Ángela I. López-Lorente <sup>a</sup>,  
Rafael Lucena <sup>a</sup>, Rafael Luque <sup>b, c, \*</sup>, Soledad Cárdenas <sup>a, \*\*</sup>

<sup>a</sup> *Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQIN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain*

<sup>b</sup> *Departamento de Química Orgánica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQIN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain*

<sup>c</sup> *People Friendship University of Russia (RUDN University), 6 Miklukho Maklaya str., 117198, Moscow, Russia*

Photocatalysts are usually confined in a substrate to prevent their dispersion and facilitate their subsequent removal from the environmental compartment after remediation, thus, resulting in portable and “green” photocatalytic platforms. If the substrate is well designed, it can retain target pollutants close to the photocatalyst particles increasing photocatalytic efficiency. This study discloses



a simple modification of conventional paper, a green and sustainable support, with a polyamide-titanium dioxide nanoparticles composite and its evaluation in photocatalysis. The material offers a high sorption capacity ( $2.1 \text{ mg/cm}^2$ ) towards the selected model pollutant, methyl orange, allowing its isolation from a contaminated media. Additionally, a remarkable photocatalytic degradation both under UV and visible light (sunlight) was observed at short times of irradiation (typically 20-40 min). According to the results, the cellulosic substrate seems to play a crucial role in the process.

**Keywords:** Photocatalysis, Modified paper, Polyamide, Titanium dioxide nanoparticles, Composite.

## 1. Introduction

The pollution of natural resources due to intensive industrial activity is a worldwide issue of concern. Large amounts of dyes are produced each year for many applications, e.g. textile, paper, food industries, among others. The removal of these contaminants has been the focus of intensive research in recent decades, covering a wide range of concentrations and chemical forms. Retention of the pollutants on sorbent materials is one of the most employed approaches (Chen et al., 2015; Stefelová et al., 2017) while photocatalysis is a greener alternative which attracted significant interest in recent years (Pelaez et al., 2012; Ibhaddon and Fitzpatrick, 2013; Shan et al., 2010; Gaya and Abdullah, 2008; Peral et al., 1997; Fox and Dulay, 1993).

Heterogeneous photocatalysis exploits the ability of certain semiconductors to absorb radiation in the UVvis/visible region to promote electrons from the gap to the conduction band. Because of this promotion, an electron/hole pair with redox activity is formed, suitable for environmental remediation and selective catalytic oxidations (Colmenares and Luque, 2014; Colmenares et al., 2016).

Different nanomaterials have been exploited as nanophotocatalysts in UV-driven catalytic degradation of pollutant dyes (e.g. malachite green, sunset yellow, Victoria blue, methyl violet, etc.), which include semiconductor quantum dots (e.g. ZnS (Rajabi et al., 2013; Rajabi et al., 2018; Shamsipur and Rajabi, 2014)) -also doped with different metals- and iron oxide magnetic nanoparticles (Rajabi et al., 2015, 2016), among others. Titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ )-mediated photocatalysis is widely employed in several applications due to the inherent advantages of titania that include low toxicity, chemical and biological stability and low cost (Thomas et al., 2017). These include self cleaning, waste water treatment and environmental remediation applications. Photoactivity of  $\text{TiO}_2$  depends on its anatase form showing superior electron-hole pair mobility associated to a high photocatalytic activity, albeit limited mainly to UV range unless doping or modification is carried out (Giesz et al., 2017).  $\text{TiO}_2$  materials can be directly dispersed on contaminated water in the form of a (nano)powder. However, the recuperation of the solid after the photocatalytic process remains a challenge in heterogeneous photocatalysis.  $\text{TiO}_2$  nanoparticles are also prone to aggregation and show a high rate of electron-hole pair recombination, reducing their efficiency. Based on these premises, the immobilization of  $\text{TiO}_2$  on substrates/supports is usually preferred (Ibhadon and Fitzpatrick, 2013; Srikanth et al., 2017). Several materials have been proposed as titania supports including glass (Kushwaha et al., 2015; Manassero et al., 2017), carbon nanoparticles (Ji et al., 2017; Réti et al., 2016; Sampaio et al., 2015), zeolites (Abd El Maksod et al., 2017; Jansson et al., 2017) or clays (Seftel et al., 2015; Pronina et al., 2015) as well as magnetically separable supports (Stefelová et al., 2017; Ouyang et al., 2016). In addition, polymers can provide exceptional possibilities in this context where they may play two complementary roles, namely, mechanical stabilization of the photocatalyst which is introduced chemically or physically into the polymeric network as well as an improved interaction with the target compounds (via selective adsorption and facilitated diffusion to the photoactive phase).

Importantly, the versatility of these materials can provide a range of alternatives with different adsorption properties which can be simply tailored depending on the target pollutants (Ghambari et al., 2017) by selecting the appropriate polymer such as poly(vinyl alcohol) (Hegedüs et al., 2017), nylon (Abdullah et al., 2016) or poly(vinyl chloride) (PVC) (Mehmandoust et al., 2014).

Cellulose is an abundant and sustainable biopolymer that has been used as support in photocatalysis, e.g., N-doped TiO<sub>2</sub> nanorods have been incorporated in regenerated cellulose thin films (Mohamed et al., 2015), nanocomposites of nanocrystalline TiO<sub>2</sub> on flexible cellulose fabrics prepared via a simple hydrothermal method (Dong et al., 2018) or anatase TiO<sub>2</sub>/cellulose hybrid paper (Jiao et al., 2017) have been described. However, the degradation of hydrophobic compounds in cellulose-based supports is hindered by the hydrophilic nature of cellulose. This limitation can be overcome if the support is chemically modified with certain groups able to promote an enhanced interaction with the target compounds. The enhancement of the sorption abilities of cellulose has been considered mostly in the analytical context. In this sense, Saraji and Farajmand reported the modification of conventional paper with different reagents (octadecyltrichlorosilane, diphenyldichlorosilane, cyclohexyl isocyanate and phenyl isocyanate) for the isolation of synthetic and natural estrogenic hormones from water (Saraji and Farajmand, 2013). Recently, our research group has proposed an effective and straightforward approach that avoids complex synthetic workflows to achieve an efficient paper coating with polymeric phases (Ríos-Gómez et al., 2017).

This article discloses the facile synthesis of a new photocatalytic support based on the simple coating of paper with a polymeric nanocomposite. The paper is modified via simple dipping into a nylon 6 solution in formic acid that contains suspended TiO<sub>2</sub> nanoparticles. The evaporation of the solvent leaves a film of the

polymer nanocomposite over the cellulose surface. The polymer, nylon 6, plays a double role both stabilizing the photocatalytic nanoparticles in the support and allowing the isolation of the pollutant from contaminated water. Nylon 6 composites have been proven as powerful sorbents towards organic molecules which they can interact with by different mechanisms including dispersion forces and hydrogen bonding (Reyes-Gallardo et al., 2014, 2017). The resulting paper-based material presented remarkable photocatalytic activity both in the UV and visible light region due to its enhanced visible light absorption.

## 2. Experimental Section

### 2.1. Reagents

All reagents were of analytical grade or better. A stock standard solution of methyl orange (MO) was prepared at a concentration of 200 mg/L in Milli-Q water (Millipore Corp., Madrid, Spain) and stored at 4 °C. Working solutions (15 mg/L) were prepared by appropriate dilution of the stock in Milli-Q water. Formic acid, nylon-6, and titanium dioxide nanoparticles (25 nm particle size) were used for the synthesis of the materials. All these reagents were obtained from Sigma-Aldrich (Madrid, Spain).

### 2.2. Synthesis and characterization of nanocomposites

Two types of materials were synthesized. Nylon-6 coated paper, henceforth denoted as P-Ny, was prepared by dipping two times a segment of filter paper (3 x 1 cm) into a 3% w/v nylon solution prepared with formic acid. Composite coated paper, henceforth denoted as P-C, was synthesized dipping two times a segment of filter paper (3 x 1 cm) into a medium containing a 3% w/v of nylon and a 4% w/v of TiO<sub>2</sub> NPs prepared with formic acid. The dips direction was changed after the first dip to obtain a more homogeneous coating. The resulting materials were characterized by different techniques. Scanning electron microscope (SEM) micrographs of the nanocomposites were performed at the

central Service for Research Support (SCAI) of the University of Córdoba using a JEOL JSM 7800 microscope. Thermogravimetric (TGA) analyses of the materials were performed on a Perkin Elmer thermal analyzer, by heating the sample up to 1000 °C at 10 °C min<sup>-1</sup> under a dynamic air atmosphere (10 mL min<sup>-1</sup>).

Attenuated total reflection infrared (ATR-IR) spectra were acquired in a Bruker Tensor 37 FT-IR spectrometer (Bruker Optik, GmbH, Ettlingen, Germany) equipped with a three internal reflections diamond ATR cell (Platinum ATR accessory, Bruker). A room temperature operating deuterated triglycine sulfate (DTGS) detector was employed for signal recording. Measurements were performed in the spectral window of 4000-600 cm<sup>-1</sup> at a 4 cm<sup>-1</sup> spectral resolution by averaging 64 scans each spectrum. Eight spectra at different locations within the filter paper were acquired and the average spectrum calculated. A background spectrum of air was acquired. Data collection and processing was done using OPUS software package (Bruker, Ettlingen, Germany). Raman measurements were performed with a confocal Raman spectrometer (alpha500, manufactured by WITec GmbH, Ulm, Germany). For excitation, a frequency doubled Nd:YAG laser at 532 nm (second harmonic generation) was employed, using a laser power of 41.5 mW (measured prior the objective lens). The laser beam was focused on the sample using a 20x/0.4 Zeiss objective. Raman spectra were collected using a 600 g mm<sup>-1</sup> diffraction grating and an electron multiplying CCD camera. Raman images were obtained by measuring a total of 150 points per line and 150 lines per image over a scan width and height of 100 µm x 100 µm, or 300 points per line and 300 lines per image for 1000 µm x 1000 µm images, respectively. The integration time was 0.01 s.

### 2.3. Adsorption of methyl orange (MO)

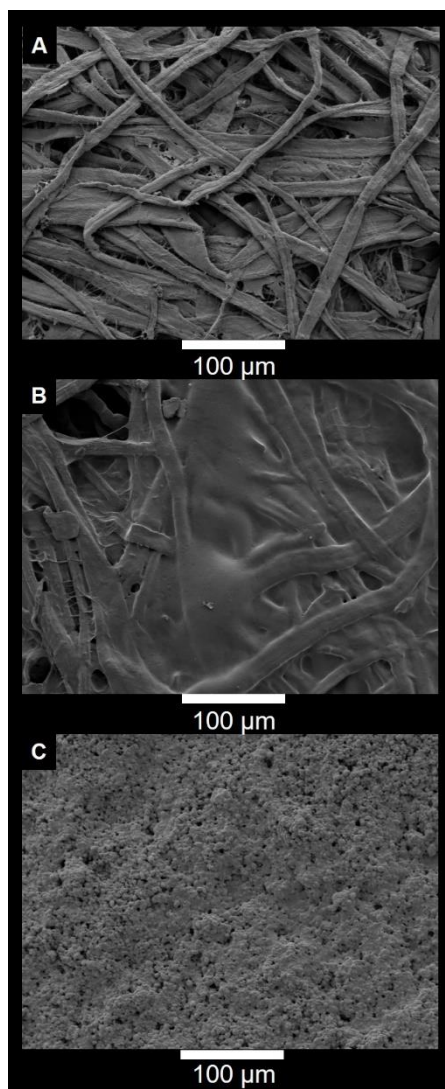
The ability of the nanocomposites for the adsorption of MO from aqueous samples were studied via on-batch assays. Firstly, supports were rolled and placed in vials of 2 mL 1 mL MO solution (15 mg/L) was then added and the solution was incubated at different times (10, 20, 30, 40 and 50 min). The incubation took place in the dark at room temperature while the vials were vortexed at 500 rpm. After the incubation period, the supernatant was photometrically analyzed.

### 2.4. Photocatalytic experiments

P-Ny and P-C with MO retained on their surface were immersed in water and irradiated with a UV source (254 nm, 99.9 J/cm<sup>2</sup>) during different times (0-60 min) in a UV chamber (Bio Link Crosslinker, BLX). For comparative purposes, blank runs (photobleaching by irradiation) and photobleaching experiments employing only cellulose paper were also conducted both under UV light and sunlight in the same time interval. Experiments were conducted in duplicate to check reproducibility.

## 3. Results and discussion

The surface structure of the synthesized nanocomposites was characterized by SEM. Fig.1A shows the surface of rawpaper where the cellulose fibers can be clearly observed. The nylon coating, as observed in Fig. 1B, partially covers the fibers with a thin film (central area). Fig. 1C also illustrates how the composite creates a uniform coating over the paper with a granular structure due to the presence of titania NPs. In the latter case, the observation of the cellulose fibers is not clear due to the complete coating of the support.



*Fig. 1. SEM pictures of (A) raw filter paper, (B) P-Ny support and (C) P-C support.*

The modified filter papers were also characterized via ATR-IR spectroscopy. The material exhibited characteristics bands at  $3334\text{ cm}^{-1}$ , corresponding to OH stretching,  $2897\text{ cm}^{-1}$  due to CH symmetrical stretching,  $1161\text{ cm}^{-1}$  (asymmetrical C-O-C stretching) and an intense absorption in the range of  $1033\text{ cm}^{-1}$  as a

consequence of C-O stretching, among others (Ríos-Gómez et al., 2017) (Fig. 2A(1)). The main differences observed in ATR-IR of the modified paper are in the region  $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ , related to the presence of nylon (Fig. 2A, (2) and (3)). The absorption at ca.  $1637\text{ cm}^{-1}$  can be assigned to the amide I band, whose major contribution arises from C=O stretching. In addition, the band at ca.  $1541\text{ cm}^{-1}$  corresponds to the so-called amide II band, due to NH deformation (Charles et al., 2009; Iwamoto and Murase, 2003). Other characteristic bands of nylon were not possible to be distinguished from the background signal of filter paper, probably due to the low thickness of the nylon coverage obtained via immersion of the paper in the polymer solution.

As previously mentioned, the main bands observed in both P-Ny and P-C spectra are those of cellulose as well as the amide bands of nylon. For evaluation, the  $1637\text{ cm}^{-1}/1033\text{ cm}^{-1}$  absorbance ratio, corresponding to the amide I band of nylon and C-O stretching of the paper, respectively, was calculated for each spectrum and the average of the eight spectra acquired at different points of the material assessed. A homogeneous distribution of the polymer and composite layers on the paper was clearly evidenced since measurements were highly reproducible. No amide I band was observed in the spectrum of paper, the value of the ratio being nearly zero. In the case of P-Ny, the contribution of C-O stretching of the paper is high, which would mean that there is a considerable amount of paper without modification available within the evanescent field of IR radiation. Importantly, the ratio of the paper modified with both the polymer and the same concentration that in (2)- and  $\text{TiO}_2$  nanoparticles, is higher, meaning a larger coverage of the paper with the polymer nanocomposite, due to the presence of the NPs, in good agreement with results from SEM images. ATR-IR spectroscopy was not able to show specific bands related to the presence of  $\text{TiO}_2$  NPs within the polymer nanocomposite. Thus, Raman spectroscopy was also employed for the characterization of nanocomposite materials. Fig. 3a shows a Raman image



of P-Ny support obtained by measuring the intensity of cellulose band at  $1096\text{ cm}^{-1}$ , where cellulose fibers within the paper can be observed. The corresponding Raman spectra is dominated by cellulose bands, namely CCC ( $380$  and  $435\text{ cm}^{-1}$ ) and CCO vibrations of  $\text{C}_6$  glucose rings ( $435$  and  $458\text{ cm}^{-1}$ ), CCC vibration of ring and glycoside bond ( $520\text{ cm}^{-1}$ ), as well as asymmetric and symmetric vibrations of glycoside bonds at ca.  $1096\text{ cm}^{-1}$  and  $1120\text{ cm}^{-1}$ , respectively. A small shoulder appears at around  $1335\text{ cm}^{-1}$ , corresponding to  $\text{CH}_2$  vibrations along with a higher band at ca.  $2980\text{ cm}^{-1}$   $\text{CH}_2$  bending and skeletal vibrations lead to a band at  $1380\text{ cm}^{-1}$ . As marked in the spectrum of Fig. 3b, there is a band around  $1648\text{ cm}^{-1}$  (\*) that can be assigned to the amide I band of nylon present within the paper.

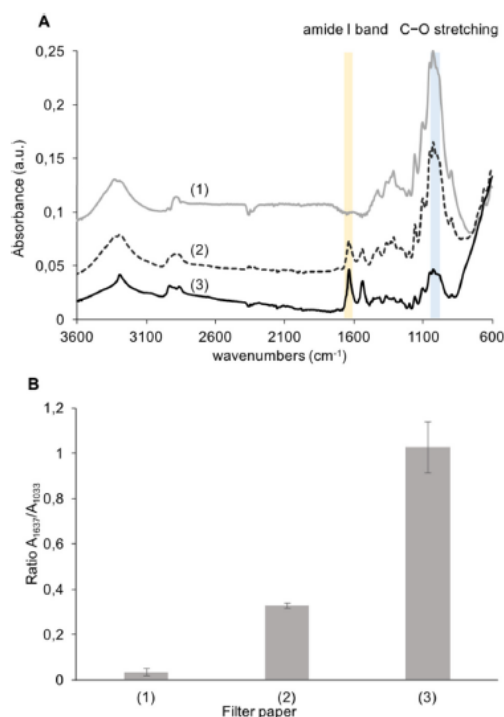


Fig. 2. (A) ATR-IR spectra and (B) plot of absorbance ratio amide I band ( $1637\text{ cm}^{-1}$ ) vs C-O stretching ( $1033\text{ cm}^{-1}$ ) for (1) filter paper, (2) P-Ny, (3) P-C.

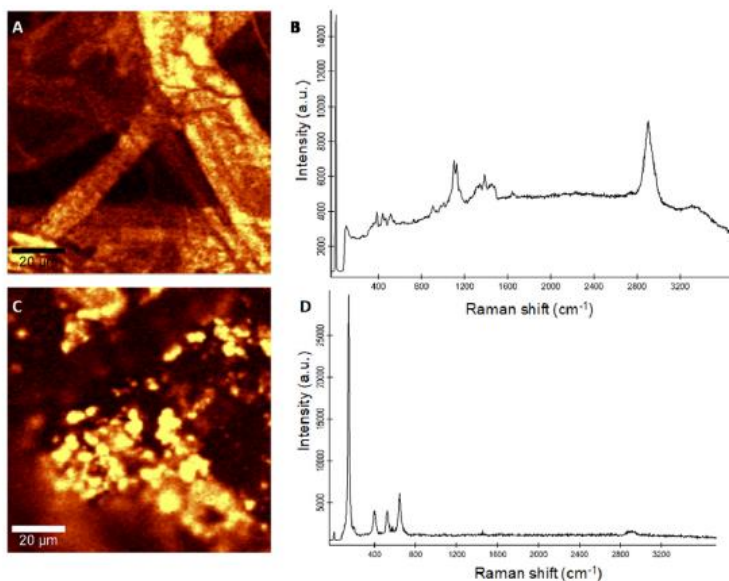


Fig. 3. (A) Raman image depicting the intensity of cellulose band at  $1096\text{ cm}^{-1}$ , of a cellulose support modified with 3% w/v nylon, (B) corresponding Raman spectrum. (C) Raman image depicting the intensity of the band of  $\text{TiO}_2$  at around  $144\text{ cm}^{-1}$ , of a cellulose support modified with 3% w/v nylon and 4% w/v  $\text{TiO}_2$ , and (D) corresponding Raman spectrum of  $\text{TiO}_2$  in the brilliant regions. Raman conditions:  $100\text{ }\mu\text{m}$  -  $100\text{ }\mu\text{m}$ , 150 points per line and 150 lines per image, 0.01 s integration time and 41.5 mW laser power.

The Raman spectrum of P-C was found to be dominated by the Raman signatures of  $\text{TiO}_2$  (Fig. 3D). According to factor group analysis described in literature, anatase has six Raman active modes ( $\text{A1g} + 2\text{B1g} + 3\text{Eg}$ ). The spectrum of  $\text{TiO}_2$  recorded in the modified paper shows main bands that appear at about  $144\text{ cm}^{-1}$  (Eg), with a small shoulder at around  $197\text{ cm}^{-1}$  (Eg),  $399\text{ cm}^{-1}$  (B1g),  $514\text{ cm}^{-1}$  (A1g) and  $639\text{ cm}^{-1}$  (Eg), in agreement with experimental spectra reported by Choi et al. (2005). It is possible to distinguish the regions where  $\text{TiO}_2$  particles are deposited (Fig. 3c) analyzing the intensity of the band at  $144\text{ cm}^{-1}$ , while in

the other regions the spectrum of cellulose and nylon appears. A homogeneous distribution of  $\text{TiO}_2$  particles within the nanocomposite material can be observed. On the other hand, the comparison of thermogravimetric curves obtained for P-Ny and P-C showed that the latter material contains about 7.5% of  $\text{TiO}_2$ . This value represents an amount of 1.7 mg of  $\text{TiO}_2$  nanoparticles in the membranes used in the photocatalytic assays.

Furthermore, Raman images were acquired in two modified supports with different amounts of  $\text{TiO}_2$ , namely 1% w/v and 4% w/v. A higher amount of  $\text{TiO}_2$  in solution where the paper is dipped on leads to a larger coverage of  $\text{TiO}_2$  distributed along the paper surface (Fig. 4B). Interestingly, the own nature of the fibers may lead to regions with different heights that are out of the focal plane of the Raman spectrometer, as seems to occur in Fig. 4b. Nevertheless, the higher density of  $\text{TiO}_2$  as compared to 1% w/v  $\text{TiO}_2$  modified paper (Fig. 4A) was evidenced.

Additional characterization via UV-Vis shows almost negligible absorbance of both unmodified and nylon-modified cellulose materials (Fig. 5), as compared to the expected UV spectra of P-C nanocomposite. Interestingly, P-C exhibited a remarkably different UV spectrum as compared to conventional titania nanoparticles with a rather broad band in the 300-400 nm range. This extension of light absorption to the almost near-visible light region may be attributed to titania nanoparticles interacting with amide groups (C, N, O) from nylon that can both partially reduce the band gap as well as, most importantly, can extend its light absorption to such almost near-visible light region. Typical titania UV-spectra exhibit rather sharp UV light absorption profiles at wavelengths below 350 nm, with a sharp decay, characteristic of anatase  $\text{TiO}_2$  phases and corresponding to charge transfer from the valence band (O 2p) to the conduction band (Ti 3d).

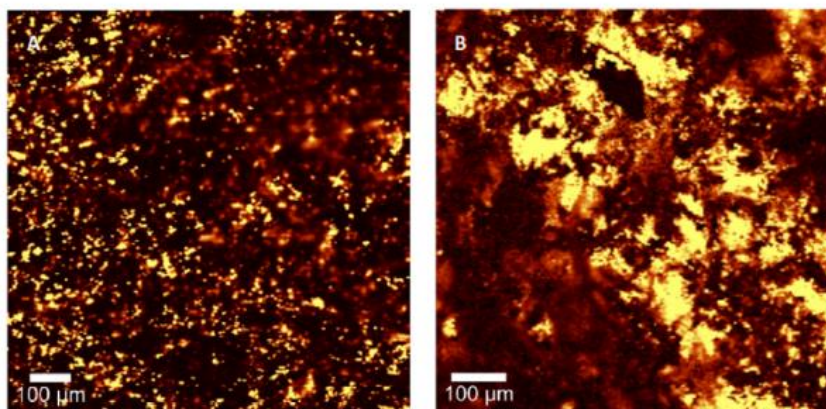


Fig. 4. Raman images depicting the intensity of the band of  $\text{TiO}_2$  at around  $1096 \text{ cm}^{-1}$ , of paper modified with 3% w/v nylon and (A) 1% w/v  $\text{TiO}_2$ , (B) 4% w/v  $\text{TiO}_2$ . Raman conditions:  $1000 \mu\text{m}$ - $1000 \mu\text{m}$ , 300 points per line and 300 lines per image, 0.01 s integration time and 41.5 mW laser power.

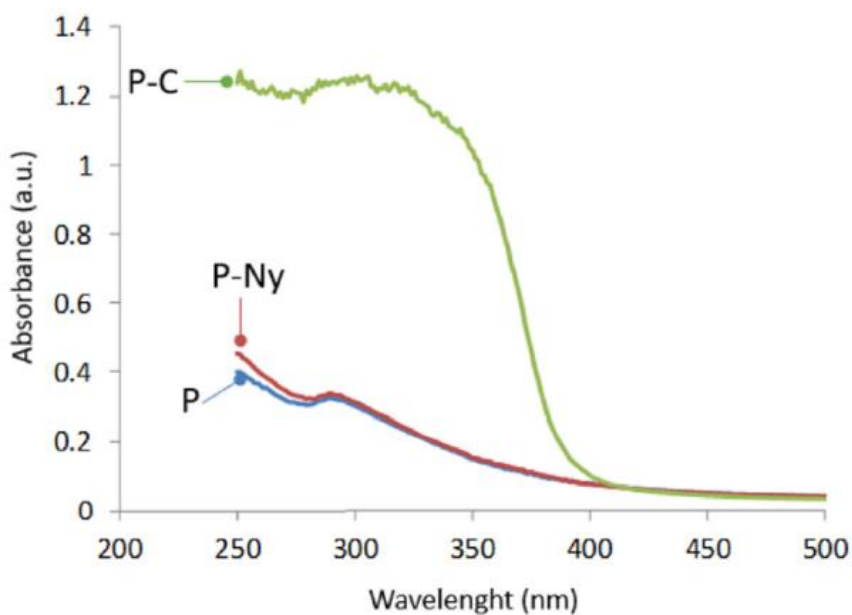


Fig. 5. UV-Vis absorption spectra of paper (P), P-Ny and P-C.

### *3.1. Sorption and photobleaching assays*

To fully understand the overall process, both steps (sorption and photocatalysis) have been individually considered. This approach also allows optimization of the degradation of methyl orange (MO) because the light is directly focused on the enriched medium. The sorption ability was evaluated incubating in-batch different supports (namely, P, P Ny or P-C) with an aqueous solution of MO. Blank runs (using unmodified cellulose paper, P) did not provide any results; cellulose paper is neither able to absorb MO from aqueous solutions nor able to degrade it under UV/visible light in the photobleaching experiments.

Fig. 6 depicts the ability of P-Ny and P-C materials for the retention of the selected dye. The recovery reaches a similar value, close to 80%, which involves a sorption capacity of  $2.1 \text{ mg/cm}^2$  for both materials. Higher values of recovery were not achieved since the assayed concentration was selected to achieve the saturation of the sorptive media. It should be pointed out that the sorption ability of the supports can be affected by chemical variables including pH or ionic strength. However, studies were performed at neutral pH and low ionic strength to reproduce classic conditions found on in-field remediation approaches and to avoid pH or ionic strength adjustments that can complicate the application when a high volume of water is intended to be processed.

Once the sorption capacity was evaluated, the photocatalytic activity was subsequently investigated. Membranes saturated with MO were immersed in a few mL of water and subsequently irradiated at different times with a UV source (254 nm and  $99.9 \text{ J/cm}^2$ ).

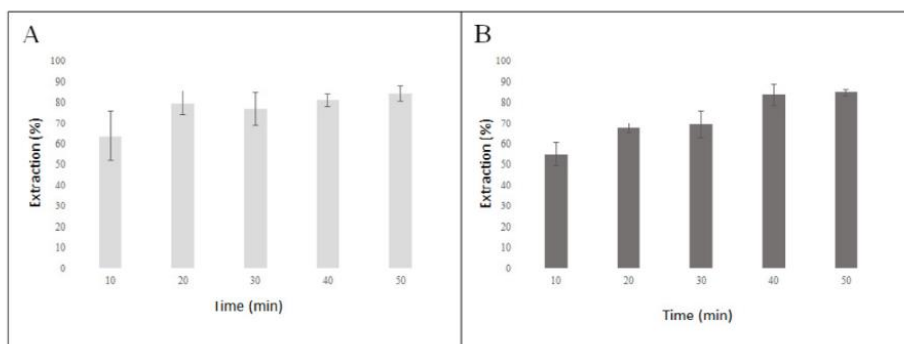
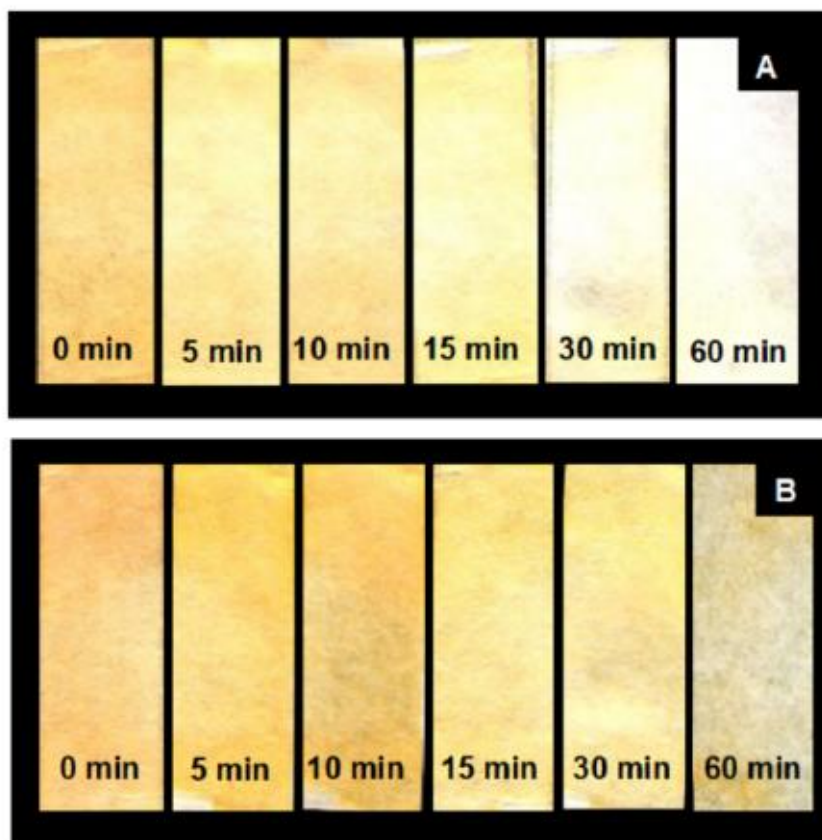


Fig. 6. MO retention capacity using P-Ny (A) and P-C (B).

The membranes were finally scanned, and the corresponding pictures are shown in Fig. 7. Fig. 7A illustrates the behavior of P-C where an evident photobleaching effect is observed. Most importantly experiments testing the photobleaching of the dye in the absence of nanocomposite provided a negligible degradation of MO under the investigated times of photodegradation (typically 60 min), both under UV and visible light (sunlight).

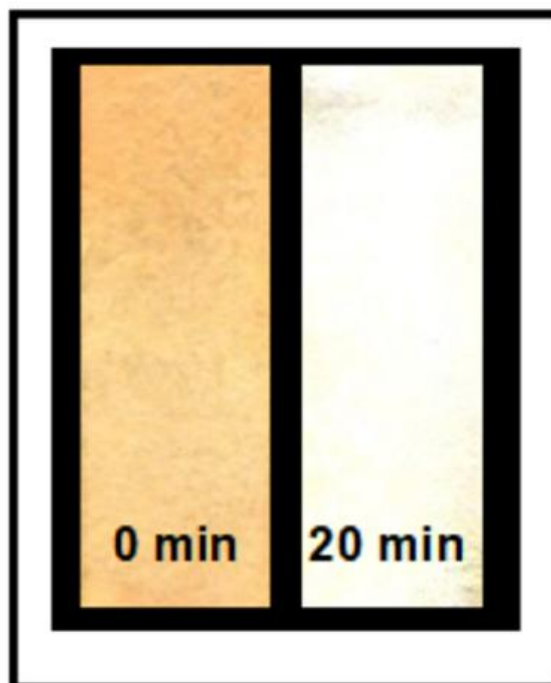
Fig. 7B comparatively depicts the behavior of P-Ny in which the color change is remarkably different after 30 and 60 min irradiation with respect to P-C. The observed change could be ascribed to the partial elution of MO because of a slight temperature increase after long times of irradiation. In fact, water solution color turned yellow during studies with P-Ny. This elution was not observed for P-C either because it really did not take place or because the photobleaching process is faster than such elution. Based on these results, P-C resulted to be an optimum sorption/photobleaching medium as compared to P-Ny which only showed an interesting sorptive ability. This integration of both sorption and photobleaching processes in the same material facilitates the degradation of methyl orange as the dye is preconcentrated on the nanocomposite and subsequently degraded by photoactive titania NPs. The polymer plays a double role related to 1) a

mechanical stabilization of titania NPs over the cellulose paper and 2) acts as effective sorptive phase towards MO selected in this case as model pollutant.



*Fig. 7. Photocatalytic effect at different times of exposition. (A) P-C support, (B) P-Ny support.*

Additionally, the photobleaching behavior of P-C was further evaluated under sunlight irradiation. An intense degradation was observed even with faster kinetics to those observed under UV radiation. Only 20 min was necessary to fully degrade MO (Fig. 8).



*Fig. 8. Photocatalytic effect of P-C support under sunlight irradiation.*

Table 1 shows a comparison of the performance of different nanomaterials, e.g. quantum dots of ZnS with different doping metals, ZnO and cellulose/titania NPs nanocomposite described in this work, for the photocatalytic degradation of several dyes (e.g. malachite green, victoria violet, methyl orange). According to the results, P-C provided optimum efficiency since the complete degradation of the target pollutant could be achieved in a shorter time, especially when sunlight was employed as radiation source. P-C also allows the immobilization of a higher amount of  $\text{TiO}_2$ , due to the synergic combination of the paper (which provides a rougher surface) and the polymer (which permits the nanoparticles confinement). This higher  $\text{TiO}_2$  amount together with the sorption capacity of the polymer makes the new support very promising for this type of applications.



**Table 1.** Comparison of the performance of some reported methods for removal of Malachite Green (MG) Victoria Blue R (VBR), Methyl Violet (MV) and Methyl Orange (MO) dyes.

System	pH	Amount of sorbent (g L <sup>-1</sup> )	Time (min)	Initial dye concentration (mg L <sup>-1</sup> )	Dye	Ref.
ZnS; Zn:Fe/decolorization	8.0	0.08	120	15	MG	(Rajabi et al., 2013)
ZnS; ZnS:Mn, ZnS:Cu, ZnS:Ag QDs	10.5	0.08	75	—	VBR	(Rajabi et al., 2018)
ZnS; ZnS:Fe/UV 40 W	11.0	0.08	120	25	MV	(Shamsipur and Rajabi, 2014)
ZnO/UV 300 W	7.0	1	75	—	MV	(Sun et al., 2009)
Cellulose/titania nanocomposite films	7.0	1.7	60 (UV lamp) 20 (sunlight)	15	MO	this work

#### 4. Conclusions

Cellulose paper coated with polyamide-TiO<sub>2</sub> nanoparticles was synthesized, characterized and its sorption/photobleaching activity evaluated towards methyl orange photobleaching as model pollutant. The paper was modified via simple dipping in a nanocomposite medium, thus avoiding complex synthetic procedures. The green credentials of this work additionally include a low solvent consumption during substrate fabrication and the use of cellulose paper, a natural-based cheap material as support. The polymeric phase both stabilizes TiO<sub>2</sub> nanoparticles (avoiding their leaching into the aqueous medium) having at the same time a strong affinity for the retention of the pollutant thus favoring its adsorption/degradation. The nanocomposite exhibits a high combined adsorption/photobleaching activity both under UV and visible light. The proposed simple approach could be in principle adapted to different target pollutants via selection of the appropriate polymer consequently paving the way to the utilization of novel environmentally sound, cheap and efficient nanocomposite materials in environmental remediation (wastewater purification).

#### Acknowledgements

Authors wish to thank Spanish Ministry of Economy and Competitiveness for funding (Project CTQ2014-52939R and CTQ2017-83175R). J. Ríos Gómez expresses her gratitude for the predoctoral grant (ref FPU13/03549) from the Spanish Ministry of Education. A. I. López-Lorente also acknowledges MINECO for a Juan de la Cierva-Incorporación contract (IJCI-2015-23994) at the University of Córdoba (Spain). Authors would like to thank Dr. Antonio Pineda (Department of Organic Chemistry, University of Córdoba) for his help performing TGA analysis. This publication was prepared with support from RUDN University Program 5-100.

**References**

Abd El Maksod, I.H., Al-Shehri, A., Bawaked, S., Mokhtar, M., Narasimharao, K., 2017. Structural and photocatalytic properties of precious metals modified TiO<sub>2</sub>-BEA zeolite composites. *Mol. Catal* 441, 140-149.

Abdullah, H., Kuo, D.H., Lee, J.Y., Wu, C.M., 2016. Recyclability of thin nylon film supported p-CuBiS<sub>2</sub>/n-TiO<sub>2</sub> heterojunction-based nanocomposites for visible light photocatalytic degradation of organic dye. *Appl. Phys. A* 122, 750-759.

Charles, J., Ramkumaar, G.R., Azhagiri, S., Gunasekaran, S., 2009. FTIR and thermal studies on Nylon-66 and 30% glass fiber reinforced Nylon-66. *E-J. Chem.* 6, 23-33.

Chen, H., Wang, X., Li, J., Wang, X., 2015. Cotton derived carbonaceous aerogels for the efficient removal of organic pollutants and heavy metal ions. *J. Mater. Chem. A* 3, 6073-6081.

Choi, H.C., Jung, Y.M., Kim, S.B., 2005. Size effects in the Raman spectra of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Vibr. Spectrosc* 37, 33-38.

Colmenares, J.C., Luque, R., 2014. Heterogeneous photocatalytic nanomaterials: prospects and challenges in selective transformations of biomass-derived compounds. *Chem. Soc. Rev.* 43, 765-778.

Colmenares, J.C., Ouyang, W., Ojeda, M., Kuna, E., Chernyayeva, O., Lisovytskiy, D., De, S., Luque, R., Balu, A.M., 2016. Mild ultrasound-assisted synthesis of TiO<sub>2</sub> supported on magnetic nanocomposites for selective photo-oxidation of benzyl alcohol. *Appl. Catal. B: Environ* 183, 107-112.

Dong, P., Cheng, X., Huang, Z., Chen, Y., Zhang, Y., Nie, X., Zhang, X., 2018. *In-situ* and phase controllable synthesis of nanocrystalline TiO<sub>2</sub> on flexible cellulose fabrics via a simple hydrothermal method. *Mat. Res. Bull.* 97, 89-95.

Fox, M., Dulay, M.T., 1993. Heterogeneous photocatalysis. *Chem. Rev.* 93, 341, 35.

Gaya, U.I., Abdullah, A.H., 2008. Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: a review of fundamentals, progress and problems. *J. PhotoChem. Photobiol. C* 9, 1-12.

Ghambari, H., Reyes-Gallardo, E.M., Lucena, R., Saraji, M., Cárdenas, S., 2017. Recycling polymer residues to synthesize magnetic nanocomposites for dispersive micro-solid phase extraction. *Talanta* 170, 451-456.

Giesz, P., Mackiewicz, E., Grobelny, J., Celichowski, G., Cieslak, M., 2017. Multifunctional hybrid functionalization of cellulose fabrics with AgNWs and TiO<sub>2</sub>. *Carbohydr. Polym* 177, 397-405.

Hegedüs, P., Szabó-Bárdos, E., Horváth, O., Szabó, P., Horváth, K., 2017. Investigation of a TiO<sub>2</sub> photocatalyst immobilized with poly(vinyl alcohol). *Catal. Today* 284, 179-186.

Ibhadon, A.O., Fitzpatrick, P., 2013. Heterogeneous photocatalysis: recent advances and applications. *Catalysts* 3, 189-218.

Iwamoto, R., Murase, H., 2003. Infrared spectroscopic study of the interactions of nylon-6 with water. *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.* 41, 1722-1729.

Jansson, I., Kobayashi, K., Hori, H., Sánchez, B., Ohtania, B., Suárez, S., 2017. Decahedral anatase titania particles immobilized on zeolitic materials for photocatalytic degradation of VOC. *Catal. Today* 287, 22-29.

Ji, L., Zhang, Y., Miao, S., Gong, M., Liu, X., 2017. *In situ* synthesis of carbon doped TiO<sub>2</sub> nanotubes with an enhanced photocatalytic performance under UV and visible light. *Carbon* 125, 544-550.

Jiao, Y., Wan, C., Li, J., 2017. Anatase TiO<sub>2</sub>/cellulose hybrid paper: synthesis, characterizations, and photocatalytic activity for degradation of indigo carmine dye. *Funct. Mater. Lett.* 10, 1750018.

Kushwaha, H.S., Parmesh, G., Vaish, R., Varma, K.B.R., 2015. TiO<sub>2</sub> microcrystallized glass plate mediated photocatalytic degradation of estrogenic pollutant in water. *J. Non-Crystal. Solids* 408, 13-17.

Manassero, A., Satuf, M.L., Alfano, O.M., 2017. Photocatalytic degradation of an emerging pollutant by TiO<sub>2</sub>-coated glass rings: a kinetic study. *Sci. Pollut. Res. Environ.* 24, 6031-6039.

Mehmandoust, S.G., Alizadeh, R., Babaluo, A.A., 2014. Kinetic study of the poly(vinyl chloride)/titanium dioxide nanocomposites photodegradation under accelerated ultraviolet and visible light exposure. *Polym. Adv. Technol.* 25, 799-808.

Mohamed, M.A., Salleh, W.N.W., Jaafar, J., Ismail, A.F., Abd Mutalib, M., Jamil, S.M., 2015. Incorporation of N-doped TiO<sub>2</sub> nanorods in regenerated

cellulose thin films fabricated from recycled newspaper as a green portable photocatalyst. *Carbohydr. Polym* 133, 429-437.

Ouyang, W., Kuna, E., Yepez, A., Balu, A.M., Romero, A.A., Colmenares, J.C., Luque, R., 2016. Mechanochemical synthesis of TiO<sub>2</sub> nanocomposites as photocatalysts for benzyl alcohol photo-oxidation. *Nanomaterials* 6, 93-99.

Pelaez, M., Nolan, N.T., Pillai, S.C., Seery, M.L., Falaras, P., Kontos, A.G., Dunlop, P.S.M., Hamilton, J.W.J., Byrne, J.A., O'Shea, K., Enterazi, M.H., Dionysiou, D.D., 2012. A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications. *Appl. Catal. B* 125, 331-349.

Peral, J., Domenech, X., Ollis, D.F., 1997. Heterogeneous photocatalysis for purification, decontamination and deodorization of air. *J. Chem. Technol. Biotechnol* 70, 117-140.

Pronina, N., Klauson, D., Moiseev, A., Deubener, J., Krichevskaya, M., 2015. Titanium dioxide sol-gel-coated expanded clay granules for use in photocatalytic fluidized-bed reactor. *Appl. Catal. B: Environ* 178, 117-123.

Rajabi, H.R., Khani, O., Shamsipur, M., Vatanpour, V., 2013. High-performance pure and Fe<sup>3+</sup>-ion doped ZnS quantum dots as green nanophotocatalysts for the removal of malachite green under UV-light irradiation. *J. Hazard. Mat* 250-251, 370-378.

Rajabi, H.R., Arjmand, H., Hoseini, S.J., Nasrabadi, H., 2015. Surface modified magnetic nanoparticles as efficient and green sorbents: synthesis, characterization, and application for the removal of anionic dye. *J. Magnet. Magn. Mat* 394, 7-13.

Rajabi, H.R., Arjmand, H., Kazamdehdashti, H., Farsi, M., 2016. A comparison investigation on photocatalytic activity performance and adsorption efficiency for the removal of cationic dye: quantum dots vs. magnetic nanoparticles. *J. Environ. Chem. Eng* 4, 2830-2840.

Rajabi, H.R., Karimi, F., Kazemdehdashti, H., Kavoshi, L., 2018. Fast sonochemically assisted synthesis of pure and doped zinc sulfide quantum dots and their applicability in organic dye removal from aqueous media. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 181, 98-105.

Réti, B., Major, Z., Szarka, D., Boldizsár, T., Horváth, E., Magrez, A., Forró, L., Dombi, A., Hernádi, K., 2016. Influence of TiO<sub>2</sub> phase composition on the photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub>/MWCNT composites prepared by combined sol-gel/hydrothermal method. *J. Mol. Catal. A: Chem.* 414, 140-147.

Reyes-Gallardo, E.M., Lucena, R., Cárdenas, S., Valcárcel, M., 2014. Magnetic nanoparticles-nylon 6 composite for the dispersive micro solid phase extraction of selected polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples. *J. Chromatogr. A* 1345, 43-49.

Reyes-Gallardo, E.M., Lucena, R., Cárdenas, S., 2017. Silica nanoparticles-nylon 6 composites: synthesis, characterization and potential use as sorbent. *RSC Adv.* 7, 2308-2314.

Ríos-Gómez, J., Lucena, R., Cárdenas, S., 2017. Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction. *Microchem. J.* 133, 90-95.

Sampaio, M.J., Silva, C.G., Silva, A.M.T., Pastrana-Martínez, L.M., Han, C., Morales- Torres, S., Figueiredo, J.L., Dionysiou, D.D., Faria, J.L., 2015. Carbon-based TiO<sub>2</sub> materials for the degradation of Microcystin-LA. *Appl. Catal. B: Environ* 170-171, 74-82.

Saraji, M., Farajmand, B., 2013. Chemically modified cellulose paper as a thin film microextraction phase. *J. Chromatogr. A* 1314, 24-30.

Seftel, E.M., Niarchos, M., Mitropoulos, C., Mertens, M., Vansant, E.F., Cool, P., 2015. Photocatalytic removal of phenol and methylene-blue in aqueous media using TiO<sub>2</sub>@LDH clay nanocomposites. *Catal. Today* 252, 120-127.

Shamsipur, M., Rajabi, H.R., 2014. Study of photocatalytic activity of ZnS quantum dots as efficient nanoparticles for removal of methyl violet: Effect of ferric ion doping. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc* 122, 260-267.

Shan, A.Y., Ghazi, T.I.M., Rashid, S.A., 2010. Immobilisation of titanium dioxide onto supporting materials in heterogeneous photocatalysis: a review. *Appl. Catal. A* 389, 1-8.

Srikanth, B., Goutham, R., Badri Narayan, R., Ramprasath, A., Gopinath, K.P., Sankaranarayanan, A.R., 2017. Recent advancements in supporting materials for immobilised photocatalytic applications in waste water treatment. *J. Environ. Manage* 200, 60-78.

Stefelová, J., Slovak, V., Siqueira, G., Olsson, R.T., Tingaut, P., Zimmermann, T., Sehaqui, H., 2017. Drying and pyrolysis of cellulose nanofibers from wood,



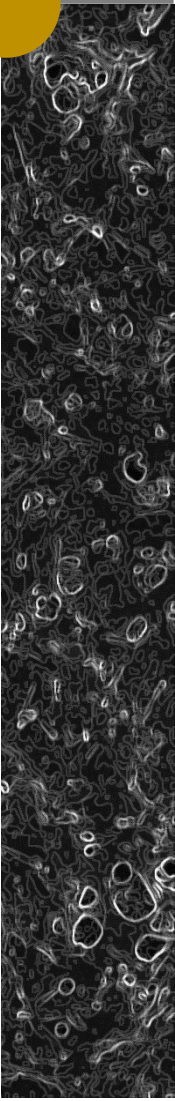
bacteria, and algae for char application in oil absorption and dye adsorption. *ACS Sustain. Chem. Eng* 5 (3), 2679-2692.

Sun, J.H., Dong, S.Y., Wang, Y.K., Sun, S.P., 2009. Preparation and photocatalytic property of a novel dumbbell-shaped ZnO microcrystal photocatalyst. *J. Hazard. Mater* 172, 1520-1526.

Thomas, M., Natarajan, T.S., Sheikh, M.U.D., Bano, M., Khan, F., 2017. Self-organized graphene oxide and TiO<sub>2</sub> nanoparticles incorporated alginate/carboxymethyl cellulose nanocomposites with efficient photocatalytic activity under direct sunlight. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 346, 113-125.

## Capítulo 4

*Carbon nanotubes-polyvinyl chloride  
composite coated paper; sorptive phase and  
paper spray media*





---

**In progress**

---

**Carbon nanotubes-polyvinyl chloride composite coated paper;  
sorptive phase and paper spray media**

Julia Ríos-Gómez,<sup>1</sup> María Teresa García-Valverde,<sup>1</sup> Miriam Beneito-Cambra,<sup>2</sup>  
Ángela I. López Lorente,<sup>1</sup> Juan F. García Reyes,<sup>2</sup> Rafael Lucena,<sup>1</sup> Antonio  
Molina,<sup>2</sup> Soledad Cárdenas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQFN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain.*

<sup>2</sup> *Analytical Chemistry Research Group, Department of Physical and Analytical Chemistry, University of Jaén, 23071 Jaén, Spain.*

In this preliminary paper, a new paper-based sorptive phase is proposed for the combination of microextraction and paper spray mass spectrometry analysis. The bare chromatographic paper is coated with a polymeric nanocomposite consisting of polyvinylchloride and carbon nanotubes. The polymer is used to stabilize the nanoparticles mechanically in the paper while the nanoparticles are involved in the extraction of the analytes as well as they may have a positive influence on the electrical conductivity of the phase. The results shown that the proposed sorptive phase is compatible with the paper spray mass spectrometry technique as the aerosol of the eluent is easily formed. Also, the new sorptive material can extract ketamine from aqueous solutions allowing its preconcentration. Both facts have

a positive effect on the analytical sensitivity. The initial results indicate that the paper coating plays a crucial role in the analytical performance of the approach.

Keywords: paper-based sorptive phases; polymeric nanocomposites; paper spray; mass spectrometry.





# BLOQUE IV



**Sólidos monolíticos de  
nanopartículas de carbono  
soportados sobre papel**





Las nanopartículas son unidades que presentan al menos una de sus dimensiones en la escala nanométrica, tomando 100 nm como referencia. Estas dimensiones provocan la aparición de propiedades excepcionales que a escala macroscópica no se manifiestan<sup>1</sup>.

Uno de los tipos de nanopartículas más utilizados en microextracción son las basadas en carbono. Las nanopartículas de carbono pueden presentarse en diferentes formas alotrópicas: grafeno, fullereno, nanotubos y nanocuernos. Entre las propiedades que exhiben estos nanomateriales destacan su potencial derivatización<sup>2</sup>, el establecimiento de interacciones no covalentes con compuesto orgánicos<sup>3,4</sup> y su incremento de conductividad eléctrica entre otras.

El uso de nanomateriales como recubrimiento de soportes planos supone un nuevo campo de investigación dentro del ámbito de la microextracción.

En el **Capítulo 5** se describe la síntesis de una fase sorbente constituida por un soporte de papel con un recubrimiento exclusivamente de nanocuernos de carbono. El sorbente consiste en una película continua de nanocuernos que presenta estabilidad mecánica y exhibe un gran potencial bioanalítico para la determinación de antidepresivos en muestras de orina. Los soportes planos se caracterizaron mediante microscopía de barrido corroborando así la homogeneidad del soporte. Como valor añadido se suma el hecho de que la síntesis requiere de un volumen muy reducido de disolvente orgánico sin comprometer la capacidad extractiva del soporte.

<sup>1</sup> G. Lasarte-Aragón, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Bioanalysis*. 3 (2011) 2533–2548.

<sup>2</sup> K.S. Novoselov, *Science*. 306 (2004) 666–669.

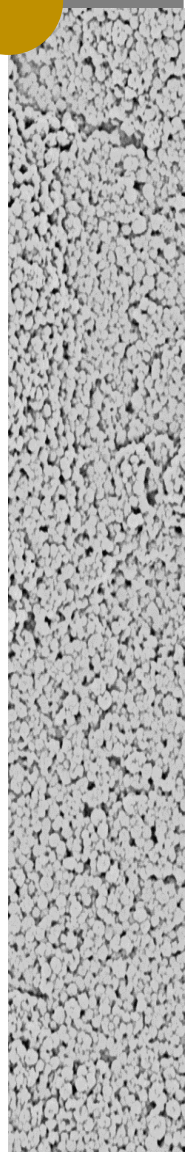
<sup>3</sup> S. Iijima, *Nature*. 354 (1991) 56–58.

<sup>4</sup> Y. Cai, J. Guibin, Z. Qingxiang, 75 (n.d.).

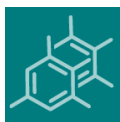


## Capítulo 5

*Carbon nanohorn suprastructures on a paper support as a sorptive phase*





**Carbon Nanohorn Suprastructures on a Paper Support as a Sorptive Phase**

Julia Ríos-Gómez, Beatriz Fresco-Cala, María Teresa García-Valverde, Rafael Lucena \* and Soledad Cárdenas

*Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQFN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain.*

**Abstract:** This article describes a method for the modification of paper with single-wall carbon nanohorns (SWCNHs) to form stable suprastructures. The SWCNHs form stable dahlia-like aggregates in solution that are then self-assembled into superior structures if the solvent is evaporated. Dipping paper sections into a dispersion of SWCNHs leads to the formation of a thin film that can be used for microextraction purposes. The coated paper can be easily handled with a simple pipette tip, paving the way for disposable extraction units. As a proof of concept, the extraction of antidepressants from urine and their determination by direct infusion mass spectrometry is studied. Limits of detection (LODs) were 10 ng/L for desipramine, amitriptyline, and mianserin, while the precision, expressed as a relative standard deviation, was 7.2%, 7.3%, and 9.8%, respectively.

**Keywords:** carbon nanohorns; sorptive phase; paper; microextraction; antidepressants.

## 1. Introduction

Solid-phase microextraction (SPME) is a consolidated sample treatment technique that combines isolation, preconcentration, and sample introduction into one step [1]. This miniaturized technique, which can easily be automated, is based on the distribution of the analytes between the sample and the fiber coating. In this context, the reversible chemical interactions between the analyte and the sorptive phase are of paramount importance to define the efficiency and selectivity of the microextraction. SPME is in a continuous development following several evident tendencies like the development of new coatings [2,3] or the direct coupling with instrumental techniques like mass-spectrometry (MS) [4,5]. All these trends make SPME the predominant technology for microextraction. The adaptation of the SPME principles to a specific field such as environmental analysis drove the development of thin film microextraction (TFME) [6]. Although both techniques share the same foundations, they differ in their application. TFME uses a thin sheet of a polymeric phase as a sorptive phase that may adopt several shapes [7] like a flat membrane [8] or a coated blade [9]. These formats present a higher extraction capacity compared to traditional fibers due to an increased surface to volume ratio, which has positive connotations for the thermodynamic and kinetics. Also, TFME can be automated to allow the simultaneous extraction of several samples, thus increasing the sample throughput [10]. In the typical procedure, the thin film is immersed in the sample, which is stirred to favor the analyte transference to the sorptive phase [11]. However, the thin film can also be stirred into the sample. The use of planar sorptive phases integrated into stirring units has allowed for the development of new techniques like rotating disk sorptive extraction [12] and stir membrane extraction [13,14].

As with SPME, the development of new sorptive phases is crucial in TFME. Fortunately, there is a wide range of materials that can be used, from commercial membranes to lab-made materials. Among the latter, fabric phases and electrospun membranes can be highlighted. Fabric phases, first proposed by Kabir and Furton, consist of the chemical modification by sol-gel reaction of fabrics (cotton, glass fiber) to introduce functional polymers to its surface [15]. On the other hand, electrospun membranes provide the analyst with a wide range of tools since the characteristics of the final product depend on the polymeric precursor(s) and conditions used during the electrospinning [16]. The use of nanoparticles (NPs) as ingredients in these materials makes their application scope even broader. The presence of these NPs usually enhances the sorption capacity by two mechanisms that can be complementary: NPs may introduce new sorption sites in the polymer structure, and may increase the superficial area of the polymer [17].

A NP can be defined as a particle that has at least one dimension in the nanometric range (100 nm is used as a limit by convention) and presents unique properties (not observable in the bulk material) because of its size [18]. There would be a myriad of different NPs if we considered their chemical composition, size, shapes, and potential combinations. From a chemical point of view NPs can be classified as inorganic or carbon-based. The latter, including fullerenes and nanotubes, have been extensively used in microextraction [19], although the use of single-walled carbon nanohorns (SWCNHs), first described by Ijima et al. in 1991 [20], is limited [21, 22]. SWCNHs consist of hornshaped sheath aggregates of graphene. They usually present lengths in the range of 40–50 nm and an inner diameter from 2 to 5 nm. Their oxidation, to introduce oxygen-containing functional groups to the surface, is easier compared to carbon nanotubes. In solution, SWCNHs are prone to aggregate, forming ordered and stable structures called dahlias [23]. Although the aggregation tendency is common for all carbon



nanoparticles, especially when their surface is not chemically modified, these ordered aggregates have been only described for CNHs. This particularity is exploited in the present work.

Oakes et al. proposed in 2013 the electrodeposition of CNHs in different substrates, opening the door for the synthesis of CNHs-coated materials for catalysis, sensing, or energy storage applications [24]. In this article, we propose for the first time the use of SWCNHs-modified paper as a sorptive phase in TFME without the assistance of an anchoring polymer. It has been observed that the dahlia aggregates, obtained in solution, form suprastructures (ordered combinations of single dahlias) when the solvent is evaporated. These suprastructures present a porous conformation that enhances their sorption ability. To make the handling of this sorptive phase easier, it has been coated over conventional paper. It is necessary to indicate that paper acts as a simple support and that suprastructures form over its surface. A small percentage of the suprastructure is embedded in the cellulose fibers, thus improving the mechanical stability of the sorptive phase. The use of paper as a support opens the door for the development of cheap and disposable units. Meng et al. proposed the use of unmodified paper for the extraction of 8-hydroxy-20-deoxyguanosine from a urine sample [25], while Saraji and Farajmand have reported the use of modified paper as a sorptive phase [26]. Our research group proposed the direct coating of conventional paper with polymers as a simple strategy to synthesize new sorptive phases [27]. Also, the resulting sorptive phase can be easily cut to the desired shape and length. The potential of paper goes beyond these applications since it can be directly analyzed by MS, in the so-called paper spray MS [28–31], which implies a dramatic simplification of the analytical process. To be used in the paper spray mode, the phases must be conductive and mechanically stable to avoid MS source contamination. As the mechanical stability of this phase in a high-voltage gradient should be previously guaranteed, this initial research will be focused on

the evaluation of its sorption ability towards selected antidepressants in urine. To speed up and simplify the analysis, the eluates are directly infused [32, 33] in the mass spectrometer, thereby avoiding a previous chromatographic separation.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Reagents

All reagents were of analytical grade or better. Unless otherwise specified, they were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA, <https://www.sigmaaldrich.com/>). Stock standard solutions of the antidepressants (mianserin, trimipramine, desipramine, and amitriptyline) were prepared in methanol at a concentration of 1 g/L and stored at 4 °C. Working standard solutions were prepared daily by rigorous dilution of the stocks in ultrapure Milli-Q water. Methanol:acetic acid (95:5) was also used for antidepressants elution after the extraction. Deuterated 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5-HIAA-D5) was used as an internal standard for MS measurements. The working concentration of the internal standard was 100 ng/mL. SWCNHs were purchased from Carbonium S.R.L. (Padua, Italy, [www.carbonium.it/](http://www.carbonium.it/)). They form stable dahlia-shaped aggregates with an average diameter of 60–80 nm. Individually, the lengths of these SWCNHs are in the range 40–50 nm, and the width in the cylindrical structure varies between 4 and 5 nm. For the synthesis of the sorptive phases, SWCNTs were dispersed in chloroform. Acetonitrile, acetic acid (Scharlab, Barcelona, Spain, <http://www.scharlab.com/>), triethylamine, and ultrapure Milli-Q water were employed as components of the chromatographic mobile phase. Blank urine samples were collected from healthy adult volunteers and stored in polytetrafluoroethylene (PTFE) flasks at -20 °C until analysis. Before the extraction, each sample was 1:1 diluted with ultrapure water and the pH was also adjusted to 10 with sodium hydroxide. The pH is fixed at alkaline conditions to promote the interaction between the basic analytes with the sorptive phase. The interaction between the sorptive phase and the analytes (their chemical structures

and the logarithm of the octanol/water partition coefficients are shown in Figure S1) involve general hydrophobic interactions and  $\pi$ - $\pi$  bonds with the aromatic moieties. The samples are not filtered before their extraction.

### *2.2. Synthesis and Characterization of Sorptive Phases*

The synthesis follows a simple workflow. First, 10 mg of SWCNHs are dispersed by manual shaking in 150  $\mu$ L of chloroform inside an Eppendorf flask. Once dispersed, segments of filter paper (3 x 0.5 cm) are dipped three consecutive times into the dispersion, drying the paper after each dip. The evaporation of the solvent leaves a suprastructure of dahlia aggregates over the paper surface. The resulting materials were characterized by scanning electron microscopy (SEM) using a JEOL JSM 7800 microscope (JEOL, Tokyo, Japan). Micrographs were acquired at the central Service for Research Support (SCAI) of the University of Córdoba.

### *2.3. Microextraction Procedure*

A plastic pipette is used to build a simple extraction device. A segment of sorptive phase with an area of 0.25 cm<sup>2</sup> is located and mechanically fixed (physically caught in the narrower section) in a 200  $\mu$ L pipette tip, as indicated in Figure 1. The extraction process comprises several steps. Initially, 1200  $\mu$ L of the pretreated sample are located in a vial. In the meantime, the sorptive phase is conditioned with 200  $\mu$ L of methanol and 200  $\mu$ L of an alkaline aqueous solution (pH = 10), which are aspirated and ejected. Once the sorptive phase is in the best conditions, the tip is immersed in the sample vial, and 80 strokes (aspiration and ejection cycles) are performed to maximize the interaction of the analytes with the membrane. Before the final elution of the analytes using 50  $\mu$ L of methanol:acetic acid (95:5, v/v), the sorptive phase is washed with 200  $\mu$ L of alkaline aqueous solution (pH = 10). The extracts are analyzed by UPLC-DAD or direct infusion MS for analyte identification and quantification, as indicated in

the next section. For direct infusion MS, the internal standard is added to the eluent at a concentration of 100 ng/mL.



*Figure 1. Three different pipette tip extraction units containing carbon nanohorn suprastructures coated over conventional paper as a sorptive phase. The phase is mechanically fixed to the narrower section of the tip and in close contact with its inner walls.*

#### *2.4. Instrumental Techniques*

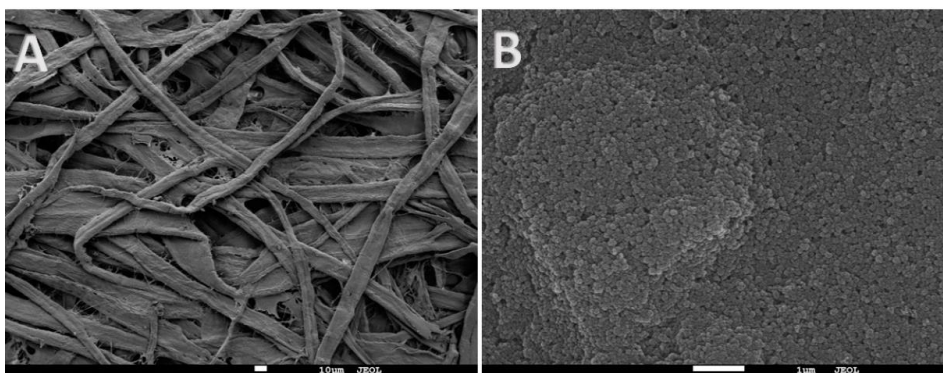
Two instrumental techniques were employed in the development of the present research. The optimization of the extraction procedure and its preliminary analytical evaluation was carried out on a Waters Acquity<sup>TM</sup> Ultra Performance LC system (Waters Corp., Madrid, Spain) using an Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH C18 column (1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm x 100 mm) working at the experimental conditions described in the Supplementary Materials. Direct infusion MS measurements were performed on Agilent 6420 Triple Quadrupole MS with electrospray source

using Agilent MassHunter Software (version B.06.00, Santa Clara, CA, USA) for data analyses. The mass spectrometer settings were fixed to improve the SRM signal. The flow rate and the temperature of the drying gas ( $N_2$ ) were 9 L/min and 300 °C, respectively. The nebulizer pressure was 40 psi, and the capillary voltage was kept to 2000 V in positive mode. The analytes and the internal standard were detected by Selected Reaction Monitoring (SRM) transitions, the parameters being specified in Table S1.

### **3. Results and Discussion**

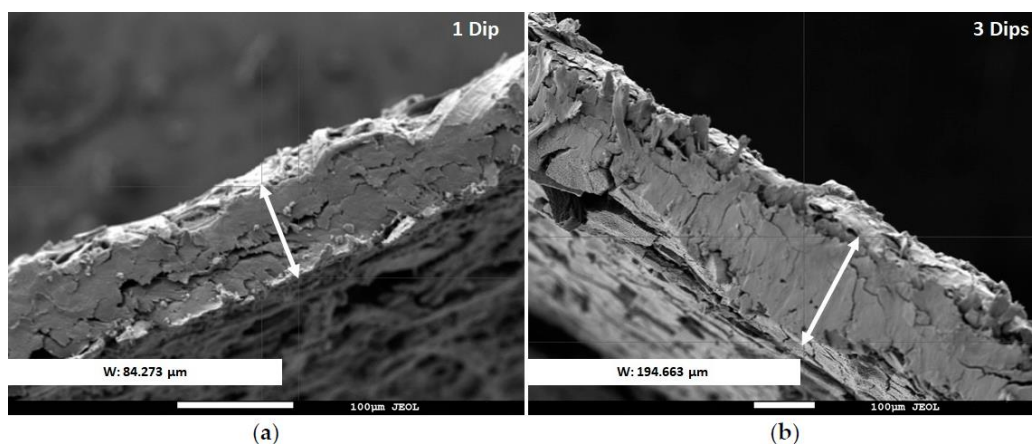
#### *3.1. Synthesis and Characterization of Sorptive Phases*

Paper is an excellent support for the preparation of new microextraction and sensing platforms due to its low price, high porosity, and easy chemical modification. Conventional paper consists of natural cellulose fibers, mechanically compacted, creating a crisscross pattern, as can be observed in Figure 2A. On the other hand, SWCNHs aggregate in solution, forming a stable structure called a dahlia. When the solvent evaporates, these aggregates form suprastructures that consist of self-assembled dahlias. If an SWCNHs dispersion in chloroform is prepared, and a conventional paper is dipped into it, these suprastructures can be created after the solvent evaporation over the paper surface. Dipping, among other approaches, has been proposed for the preparation of coatings in SPME [34]. Figure 2B shows the SEM picture of modified paper where single nanometric dahlias, showing a semispherical shape, are easily identified, while the typical fibrous structure of the unmodified paper is not observed.



*Figure 2. SEM micrographs of (A) unmodified paper (at 300 magnifications) and (B) coated paper (at 13,000x magnification). The presence of the SWNHs suprastructure, which completely covers the cellulose fibers, is observable on the surface.*

The thickness of the suprastructure coating can easily be modified by increasing the number of paper dips. Figure 3 shows the superficial SEM pictures of two sorptive phases fabricated using one and three dips, respectively. The thickness of the coating increases from ca. 84 to 190  $\mu\text{m}$ . The thickness is directly related to the extraction capacity, as can be observed for desipramine in Figure S2. The best extraction recoveries are obtained for three dips, which indicates that the sorption is not only superficial; the size of the pores is sufficient for the diffusion of the analytes. Although the extraction is not exhaustive, the results are comparable with those obtained in other microextraction techniques.



*Figure 3. SEM micrographs of the side profile of sorptive phases synthesized after (a) one dip (at 270 magnifications) and (b) three dips (at 140 magnification). The thickness of the coating (considering the different scale of the pictures) increases from ca. 84 to 190  $\mu\text{m}$ .*

It is assumed that the mechanical stability is the critical issue of the new phase. However, different tests have demonstrated acceptable stability under working conditions where the sample is passed laterally (it does not flow) through the sorptive phase. On the one hand, after the synthesis, the sorptive phases are cleaned with different solvents, and negligible detachment of the suprastructures is observed. Although the extracts are filtered before their injection in the UPLC, the dahlia sizes (60–80 nm) are smaller than the filter pore size (0.22  $\mu\text{m}$ ). A detachment of the nanoparticles would affect the column backpressure (which is very sensitive to the introduction of particles) in UPLC analyses. However, the pressure remained in the normal working range. Finally, sorptive phases can be reused up to 100 times, which indicates that the sorptive phase is not lost during the extraction.

The explanation of this stability can be found on the support. Paper is porous, and the first layer of CNHs aggregates can be occluded on its structure while the subsequent layers can be stabilized by non-covalent ( $\pi$ - $\pi$ ) interactions. This stabilization and the working conditions previously described can be the reason behind this acceptable stability.

#### **4. Extraction Evaluation**

The effect of three critical parameters on the extraction of the analytes was evaluated. The sensitivity and precision enhancement were considered to select the most appropriate conditions. The optimization was done following a one variable at a time approach. Once optimized, the variable is fixed at its optimum value to study the rest of the parameters. Each condition was evaluated in triplicate.

The number of sample strokes (times that the solution is pulled into and ejected from the pipette tip) was evaluated, placing 800  $\mu$ L of an aqueous standard in a glass vial. As can be observed in Figure 4A, the extraction recovery increases with the number of strokes up to 80 cycles, before decreasing for further values. The number of cycles indicates that the diffusion of the analytes from the solution to the sorptive phases is not promoted. This fact can be ascribed to the geometry of the pipette tip and the location of the phase in one of the inner walls of the tip (see Figure 1), which permits the direct contact of only a fraction of the sample with the sorptive phase. The modification of the extraction unit to enhance this transference is a current line of research.



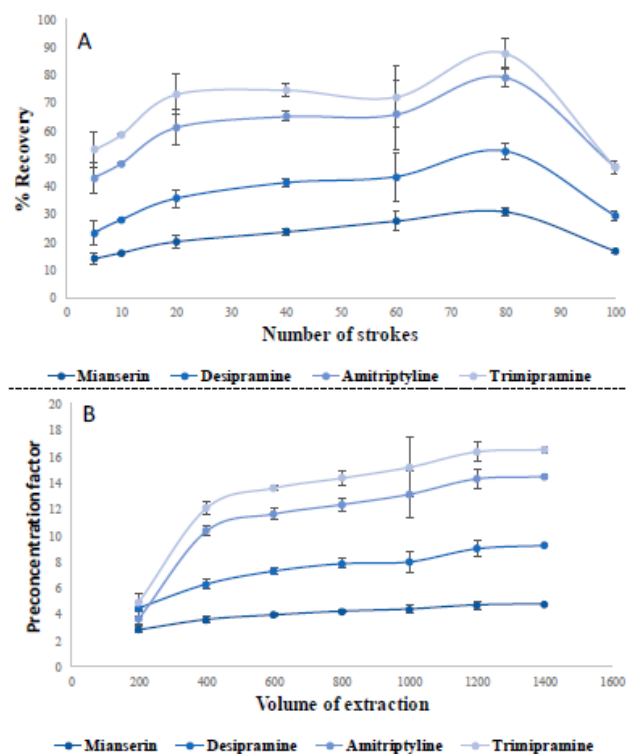


Figure 4. Effect of the (A) number of strokes and (B) sample volume on the extraction recovery of the analyte. The sample volume is defined as the volume of sample placed in the extraction vial. Each condition was evaluated in triplicate.

The sample volume was also considered in depth. This volume was defined as the volume of sample placed in the extraction vial. For the extraction, the pipette tip containing the sorptive phase is immersed in the sample, and 80 strokes are done without taking the tip out of the sample. As can be observed, the peak of the area of the analytes increased with the initial sample volume up to 1200  $\mu\text{L}$  (Figure 4B), which was selected as the optimum value. This volume is compatible with bioanalytical samples like urine or saliva.

Finally, the number of elution strokes was considered. The results (data not shown) indicate that 10 cycles were enough to elute the analytes.

## 5. Analytical Evaluation

The combination of the extraction workflow with chromatographic analysis (UPLC-DAD) was initially considered to fully understand the potential of the sample treatment. For this purpose, a calibration curve for each analyte was constructed. Good linearity ( $R > 0.995$ ) was observed in the range 10–1500  $\mu\text{g/L}$  for desipramine, amitriptyline, and mianserin, while trimipramine presented a slightly lower value ( $R = 0.989$ ). The limits of detection, which were calculated using a signal to noise ratio of 3, were in the range of 0.1  $\mu\text{g/L}$  for desipramine, amitriptyline, and mianserin, while trimipramine presented a slightly higher value (0.2  $\mu\text{g/L}$ ). The repeatability of the method, expressed as the relative standard deviation (RSD %), ranged from 3.8% (amitriptyline) to 7.4% (trimipramine). The analysis of a raw urine sample with the method did not show good performance, with relative recoveries (calculated at 200  $\mu\text{g/L}$ ) in the 50–60% range, although the 1:1 dilution of the sample fulfilled the 70–130% recovery criterion.

Once the performance of the extraction workflow in combination with UPLC-DAD was evaluated, its direct coupling with MS was also studied. Direct infusion MS allows the reduction of the analysis time, providing good selectivity (working in the SRM mode) and sensitivity (if ion-suppression is negligible). In most cases, ESI-MS requires the use of an internal standard to improve the precision measurement, and in this case, 5-HIAA-D5 was used for this purpose. According to the results obtained with the UPLC-UV combination, in-matrix calibration was selected for the direct infusion approach. Interestingly, the calibration curves obtained for the analytes in the range from 0.1 to 10  $\mu\text{g/L}$  (six different concentration levels,  $n = 3$ ), and prepared in blank urine 1:1 diluted in water, were

linear ( $R > 0.993$ ) for almost all the analytes, trimipramine excepted ( $R = 0.9$ ), while the limits of detection were in the range of 10 ng/L for desipramine, amitriptyline, and mianserin. The precision, expressed as RSD values, was evaluated at 0.1  $\mu\text{g/L}$  considering three replicates. The values of the last three analytes were 7.2%, 7.3%, and 9.8%, respectively.

Table 1 summarizes and compares the sensitivity levels provided by different analytical methods [35–40] proposed for the determination of antidepressant drugs in biological fluids. The new approach provided the best results thanks to the use of direct infusion MS as instrumental technique. This combination combines the inherent sensitivity of MS with the higher injection volumes allowed in direct infusion. In fact, the sample volume is limited in chromatographic separation by the resolution factor.

**Table 1.** Comparison of sensitivity provided by the new method with other counterparts proposed for the determination of antidepressant drugs in biological samples.

Extraction Procedure <sup>1</sup>	Instrumental Technique <sup>2</sup>	Sample	Linear Range	LOD	Reference
Micro SPE	LC-UV	Urine	14–1000 µg/L	8.6–15.2 µg/L	[35]
Hollow fiber drop to drop microextraction	GC-MS	Water Urine Blood	0.5–50 mg/L	0.007–0.021 mg/L	[36]
Ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction	LC-MS/MS	Blood	10–1000 µg/L	1–2 µg/L	[37]
Thin film microextraction	DCBI-MS	Plasma	5–1000 µg/L	0.3–1 µg/L	[38]
SPME	LC-UV	Urine	10–400 µg/	3–5 µg/	[39]
MEPS	GC-MS	Urine	0.1–100 µg/L	0.03–0.05 µg/L	[40]
Thin film microextraction	Direct infusion-MS	Urine	0.1–10	10 ng/L	This work

<sup>1</sup>SPE, solid phase extraction; SPME, solid phase microextraction, MEPS, microextraction; MEPS, microextraction in packed sorbent. <sup>2</sup>LC, liquid chromatography; GC, gas chromatography; MS mass spectrometry; DCBI, desorption corona beam ionization; UV, ultraviolet detection.

## 6. Conclusions

This article presents carbon nanohorn suprastructures coated over conventional paper as a sorptive phase in thin film microextraction. To make a critical and complete study of the new phase, a SWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities, and Threats) analysis has been done. This study, which is schematically presented in Figure 5, is focused on the new sorptive phase rather than the analytical application.

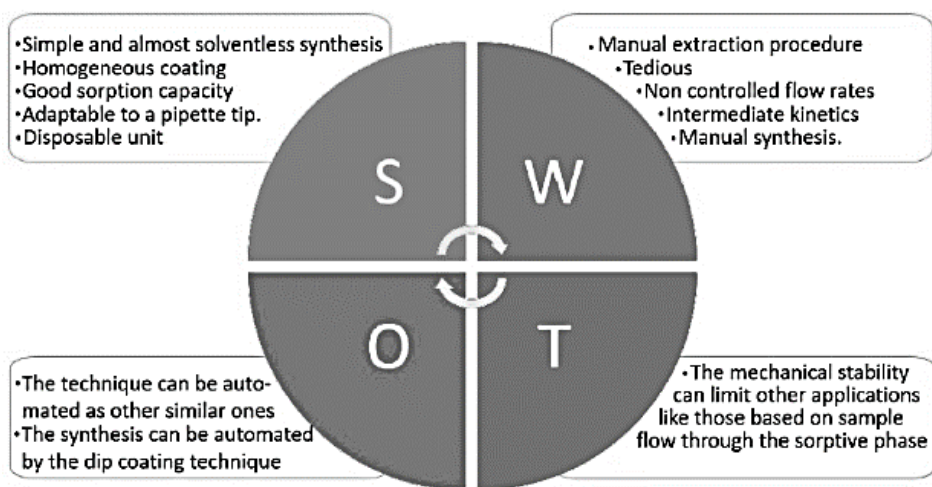


Figure 5. SWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities, and Threats) analysis of the new sorptive phase.

The synthesis is simple as it only requires dipping the paper into an organic dispersion containing the nanostructures. The evaporation of the solvent leaves a continuous and homogeneous layer of aggregated dahlias over the paper surface, which can interact with the target analytes. The volume of solvent is very low, and the synthesis can be considered almost solventless. The as-prepared sorptive phases, which have dimensions of  $3 \times 0.5$  cm, are finally adapted to conventional pipette tips, which act as simple extraction devices. The volume of the tips and

their disposable nature make this approach attractive in the bioanalytical context. Several variables, including the number of dips, strokes, or sample volume, have been considered in detail to fully understand the potential of the sorptive phase. The combination of the microextraction technique and direct infusion MS allows the rapid detection and determination of three antidepressants (desipramine, amitriptyline, and mianserin) in urine samples with limits of detection in the ng/L range. Considering the chemical characteristics of the SWNHs, the new sorptive phase has the potential to interact with a great variety of compounds, especially those containing aromatic rings on their structures.

In this first approach a manual extraction is performed; therefore, the procedure is tedious and the sample flow rate cannot be efficiently controlled. As has been demonstrated, many strokes are required for the extraction, which indicates intermediate kinetics (the velocity of the extraction depends on the tip geometry as only a fraction of the aspirated volume meets the sorptive phase). In the same way, the synthesis (dip and evaporation) is done manually.

The potential automation of pipette tip extraction [41–43] or the use of static extraction procedures (where several samples can be extracted at the same time) may be a solution. Also, the synthesis can be automated by dip coating technology.

The stability of the coating is the main limitation for flow through applications, as the CNHs superstructure is not covalently bonded to the paper substrate. Also, assuring their stability in the paper-spray MS approach will be an exciting challenge in the near future.

Supplementary Materials: The following are available online. Figure S1: Chemical structure of the four antidepressants drugs studied in this work. The

logarithm of octanol/water partition coefficients ( $\log P$ ) for all the analytes at the working pH are also shown (source [www.chemspider.com](http://www.chemspider.com)), Figure S2: Effect of the number of dips into the extraction recovery of the target analytes, Table S1: Selected reaction monitoring parameters for the MS analyses.

**Author Contributions:** J.R.-G., B.F.-C. and R.L. designed the extraction experiments; M.T.G.-V designed the direct infusion MS experiments; J.R.-G. performed the experiments; S.C. and R.L. supervised the project; all the authors contributed to the paper writing.

**Funding:** Financial support from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (CTQ2017-83175R) is gratefully acknowledged.

**Acknowledgments:** J.R.-G., B.F.-C., and M.T.G.-V. express their gratitude for the predoctoral grants (FPU13/03549, FPU13/03896, and BES-2015-071421) from the Spanish Ministry of Education. The authors would like to thank the Central Service for Research Support (SCAI) of the University of Córdoba for the service provided to obtain the micrographs. Article processing charge was sponsored by MDPI.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Arthur, C.L.; Pawliszyn, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* 1990, 62, 2145–2148. [CrossRef]
2. Souza-Silva, É.A.; Gionfriddo, E.; Shirey, R.; Sidisky, L.; Pawliszyn, J. Methodical evaluation and improvement of matrix compatible PDMS-overcoated coating for direct immersion solid phase microextraction gas chromatography (DI-SPME-GC)-based applications. *Anal. Chim. Acta* 2016, 920, 54–62. [CrossRef] [PubMed]
3. Gionfriddo, E.; Boyaci, E.; Pawliszyn, J. New generation of solid-phase microextraction coatings for complementary separation approaches: a step toward comprehensive metabolomics and multiresidue analyses in complex matrices. *Anal. Chem.* 2017, 89, 4046–4054. [CrossRef] [PubMed]
4. Gómez-Ríos, G.A.; Liu, C.; Tascon, M.; Reyes-Garcés, N.; Arnold, D.W.; Covey, T.R.; Pawliszyn, J. Open port probe sampling interface for the direct coupling of biocompatible solid-phase microextraction to atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2017, 89, 3805–3809. [CrossRef] [PubMed]
5. Gómez-Ríos, G.A.; Vasiljevic, T.; Gionfriddo, E.; Yu, M.; Pawliszyn, J. Towards on-site analysis of complex matrices by solid-phase microextraction-transmission mode coupled to a portable mass spectrometer via direct analysis in real time. *Analyst* 2017, 142, 2928–2935. [CrossRef] [PubMed]



6. Bruheim, I.; Liu, X.; Pawliszyn, J. Thin-film microextraction. *Anal. Chem.* 2003, 75, 1002–1010. [CrossRef] [PubMed]
7. Jiang, R.; Pawliszyn, J. Thin-film microextraction offers another geometry for solid-phase microextraction. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2012, 39, 245–253. [CrossRef]
8. Riazi Kermani, F.; Pawliszyn, J. Sorbent coated glass wool fabric as a thin film microextraction device. *Anal. Chem.* 2012, 84, 8990–8995. [CrossRef] [PubMed]
9. Mirnaghi, F.S.; Pawliszyn, J. Development of coatings for automated 96-blade solid phase microextraction- liquid chromatography-tandem mass spectrometry system, capable of extracting a wide polarity range of analytes from biological fluids. *J. Chromatogr. A* 2012, 1261, 91–98. [CrossRef] [PubMed]
10. Vuckovic, D.; Cudjoe, E.; Musteata, F.M.; Pawliszyn, J. Automated solid-phase microextraction and thin-film microextraction for high-throughput analysis of biological fluids and ligand-receptor binding studies. *Nat. Protoc.* 2010, 5, 140–161. [CrossRef] [PubMed]
11. Karimi, S.; Talebpour, Z.; Adib, N. Sorptive thin film microextraction followed by direct solid state spectrofluorimetry: A simple, rapid and sensitive method for determination of carvedilol in human plasma. *Anal. Chim. Acta* 2016, 924, 45–52. [CrossRef] [PubMed]
12. Richter, P.; Leiva, C.; Choque, C.; Giordano, A.; Sepúlveda, B. Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples. *J.*

Chromatogr. A 2009, 1216, 8598–8602. [CrossRef] [PubMed]

13. Alcudia-León, M.C.; Lucena, R.; Cárdenas, S.; Valcárcel, M. Stir membrane extraction: A useful approach for liquid sample pretreatment. *Anal. Chem.* 2009, 81, 8957–8961. [CrossRef] [PubMed]
14. Roldán-Pijuán, M.; Lucena, R.; Cárdenas, S.; Valcárcel, M.; Kabir, A.; Furton, K.G. Stir fabric phase sorptive extraction for the determination of triazine herbicides in environmental waters by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 2015, 1376, 35–45. [CrossRef] [PubMed]
15. Racamonde, I.; Rodil, R.; Quintana, J.B.; Sieira, B.J.; Kabir, A.; Furton, K.G.; Cela, R. Fabric phase sorptive extraction: A new sorptive microextraction technique for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs from environmental water samples. *Anal. Chim. Acta* 2015, 865, 22–30. [CrossRef] [PubMed]
16. Reyes-Gallardo, E.M.; Lucena, R.; Cárdenas, S. Electrospun nanofibers as sorptive phases in microextraction. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2016, 84, 3–11. [CrossRef]
17. Bagheri, H.; Roostaie, A. Roles of inorganic oxide nanoparticles on extraction efficiency of electrospun polyethylene terephthalate nanocomposite as an unbreakable fiber coating. *J. Chromatogr. A* 2015, 1375, 8–16. [CrossRef] [PubMed]
18. Auffan, M.; Rose, J.; Bottero, J.Y.; Lowry, G.V.; Jolivet, J.P.; Wiesner, M.R. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat. Nanotechnol.* 2009, 4,

- 634–641. [CrossRef] [PubMed]
19. Valcárcel, M.; Cárdenas, S.; Simonet, B.M.; Moliner-Martínez, Y.; Lucena, R. Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2008, 27, 34–43. [CrossRef]
20. Iijima, S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 1991, 354, 56–58. [CrossRef]
21. Jiménez-Soto, J.M.; Cárdenas, S.; Valcárcel, M. Oxidized single-walled carbon nanohorns as sorbent for porous hollow fiber direct immersion solid-phase microextraction for the determination of triazines in waters. *Anal. Bioanal. Chem.* 2013, 405, 2661–2669. [CrossRef] [PubMed]
22. Fresco-Cala, B.; Cárdenas, S.; Herrero-Martínez, J.M. Preparation of porous methacrylate monoliths with oxidized single-walled carbon nanohorns for the extraction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs from urine samples. *Microchim. Acta* 2017, 184, 1863–1871. [CrossRef]
23. Iijima, S.; Yudasaka, M.; Yamada, R.; Bandow, S.; Suenaga, K.; Kokai, F.; Takahashi, K. Nano-aggregates of single-walled graphitic carbon nano-horns. *Chem. Phys. Lett.* 1999, 309, 165–170. [CrossRef]
24. Oakes, L.; Westover, A.; Mahjouri-Samani, M.; Chatterjee, S.; Puretzky, A.A.; Rouleau, C.; Geohegan, D.B.; Pint, C.L. Uniform, homogenous coatings of carbon nanohorns on arbitrary substrates from common solvents. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2013, 5, 13153–13160. [CrossRef] [PubMed]

25. Meng, X.; Liu, Q.; Ding, Y. Paper-based solid-phase microextraction for analysis of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in urine sample by CE-LIF. *Electrophoresis* 2017, 38, 494–500. [CrossRef] [PubMed]
26. Saraji, M.; Farajmand, B. Chemically modified cellulose paper as a thin film microextraction phase. *J. Chromatogr. A* 2013, 1314, 24–30. [CrossRef] [PubMed]
27. Ríos-Gómez, J.; Lucena, R.; Cárdenas, S. Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction. *Microchem. J.* 2017, 133, 90–95. [CrossRef]
28. Damon, D.E.; Davis, K.M.; Moreira, C.R.; Capone, P.; Cruttenden, R.; Badu-Tawiah, A.K. Direct biofluid analysis using hydrophobic paper spray mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2016, 88, 1878–1884. [CrossRef] [PubMed]
29. Mendes, T.P.P.; Pereira, I.; Ferreira, M.R.; Chaves, A.R.; Vaz, B.G. Molecularly imprinted polymer-coated paper as a substrate for highly sensitive analysis using paper spray mass spectrometry: Quantification of metabolites in urine. *Anal. Methods* 2017, 9, 6117–6123. [CrossRef]
30. Wang, T.; Zheng, Y.; Wang, X.; Austin, D.E.; Zhang, Z. Sub-ppt Mass spectrometric detection of therapeutic drugs in complex biological matrixes using polystyrene-microsphere-coated paper spray. *Anal. Chem.* 2017, 89, 7988–7995. [CrossRef] [PubMed]
31. Pereira, I.; Rodrigues, M.F.; Chaves, A.R.; Vaz, B.G. Molecularly imprinted polymer (MIP) membrane assisted direct spray ionization mass

- spectrometry for agrochemicals screening in foodstuffs. *Talanta* 2018, 178, 507–514. [CrossRef] [PubMed]
32. Castrillo, J.I.; Hayes, A.; Mohammed, S.; Gaskell, S.J.; Oliver, S.G. An optimized protocol for metabolome analysis in yeast using direct infusion electrospray mass spectrometry. *Phytochemistry* 2003, 62, 929–937. [CrossRef]
33. González-Domínguez, R.; García-Barrera, T.; Gómez-Ariza, J.L. Using direct infusion mass spectrometry for serum metabolomics in Alzheimer's disease. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014, 406, 7137–7148. [CrossRef] [PubMed]
34. Aziz-Zanjani, M.O.; Mehdinia, A. A review on procedures for the preparation of coatings for solid phase microextraction. *Microchim. Acta* 2014, 181, 1169–1190. [CrossRef]
35. Fresco-Cala, B.; Mompó-Roselló, Ó.; Simó-Alfonso, E.F.; Cárdenas, S.; Herrero-Martínez, J.M. Carbon nanotube-modified monolithic polymethacrylate pipette tips for (micro) solid-phase extraction of antidepressants from urine samples. *Microchim. Acta* 2018, 185, 127. [CrossRef] [PubMed]
36. Jagtap, P.K.; Tapadia, K. Pharmacokinetic determination and analysis of nortriptyline based on GC–MS coupled with hollow-fiber drop-to-drop solvent microextraction technique. *Bioanalysis* 2018, 10, 143–152. [CrossRef] [PubMed]
37. De Boeck, M.; Dubrulle, L.; Dehaen, W.; Tytgat, J.; Cuypers, E. Fast and

easy extraction of antidepressants from whole blood using ionic liquids as extraction solvent. *Talanta* 2018, 180, 292–299. [CrossRef] [PubMed]

38. Chen, D.; Hu, Y.-N.; Hussain, D.; Zhu, G.-T.; Huang, Y.-Q.; Feng, Y.-Q. Electrospun fibrous thin film microextraction coupled with desorption corona beam ionization-mass spectrometry for rapid analysis of antidepressants in human plasma. *Talanta* 2016, 152, 188–195. [CrossRef] [PubMed]
39. Rajabi, A.A.; Yamini, Y.; Faraji, M.; Seidi, S. Solid-phase microextraction based on cetyltrimethylammonium bromide-coated magnetic nanoparticles for determination of antidepressants from biological fluids. *Med. Chem. Res.* 2013, 22, 1570–1577. [CrossRef]
40. Bagheri, H.; Banihashemi, S.; Zandian, F.K. Microextraction of antidepressant drugs into syringes packed with a nanocomposite consisting of polydopamine, silver nanoparticles and polypyrrole. *Microchim. Acta* 2016, 183, 195–202. [CrossRef]
41. Guan, H.; Brewer, W.E.; Garriss, S.T.; Morgan, S.L. Disposable pipette extraction for the analysis of pesticides in fruit and vegetables using gas chromatography/mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2010, 1217, 1867–1874. [CrossRef] [PubMed]
42. Brewer, W.E. Disposable pipette extraction. U.S. Patent US6566145B2, 20 May 2003.
43. Brewer, W.E. Dispersive pipette extraction tip and methods for use. U.S. Patent US9733169B2, 15 August 2017.

*Supplementary information*

Figure S1 and S2, Table 1

**1. UPLC-DAD analysis**

Chromatographic analyses of antidepressants were carried out on a Waters Acquity™ Ultra Performance LC system (Waters Corp., Madrid, Spain) using an Acquity UPLC® BEH C18 column (1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm  $\times$  100 mm) maintained at 40 °C. The separation was performed under an isocratic gradient (30% B) using acetonitrile (solvent B) and water: acetic acid: triethylamine (0.1% acetic acid, 10 mM triethylamine) (solvent A) as mobile phase components. The system was re-equilibrated for 1 min between analyses, and therefore the total run time was 9 min. During the separation, the flow rate was maintained at 0.3 mL/min and 10  $\mu\text{L}$  was injected with partial loop mode. The separated analytes were measured at 254 nm (mianserine and desipramine) and 252 nm (trimipramine and amitryptiline) using a PDA e $\lambda$  Detector (Waters). System control was achieved with Empower software also from Waters.

## 2. Direct infusion MS analysis

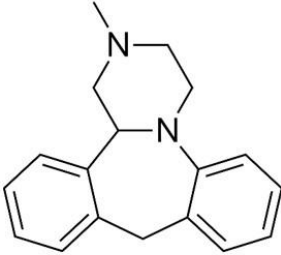
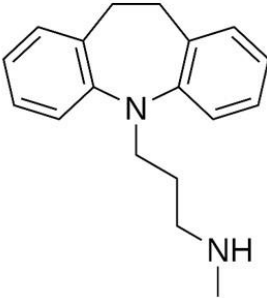
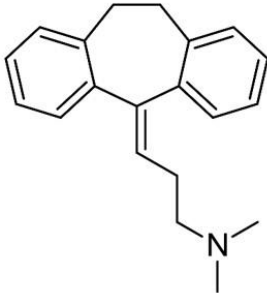
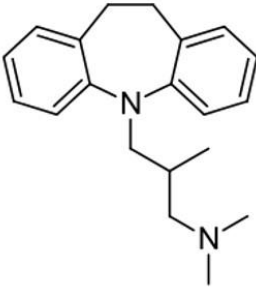
**Table S1.** Selected reaction monitoring parameters for the MS analyses

Analyte	Precursor ion ([M+H] <sup>+</sup> adduct) (m/z)	Product ions (m/z)	Fragmentor voltage (V)	Collision energy (V)	Collision cell accelerator voltage (CAV) (V)
Trimipramine	295.2	100.2 (Q)	125	20	7
		58.2		40	
Amitryptiline	278.2	233.1	140	20	7
		91.1 (Q)		40	
Desipramine	267.1	72.2 (Q)	145	15	7
		44.2		50	
Mianserine	265.2	208.1	135	20	7
		58.2 (Q)		30	
I.S	197.0	150.1 (Q)	125	25	1
		95.1		45	

Q: Quantitation transition

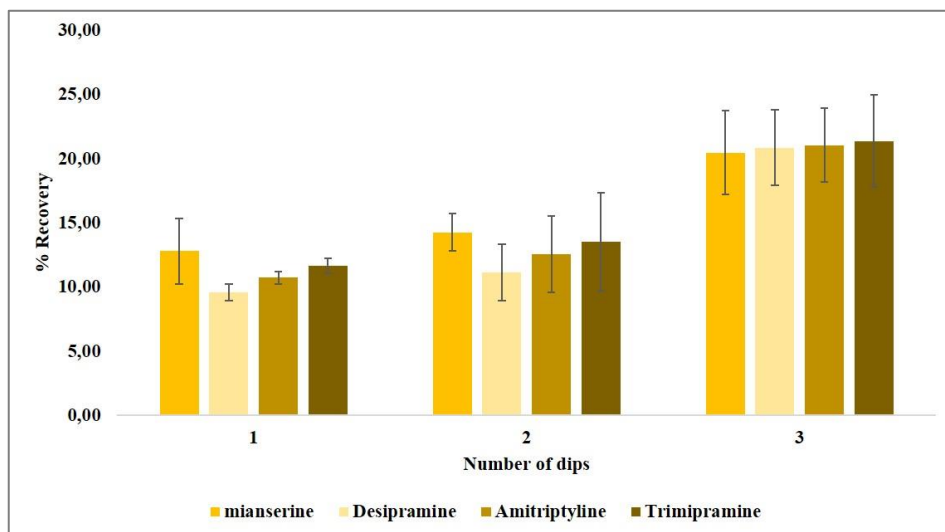


## 3. Chemical structure of the target analytes

<p><b>Mianserin</b></p>  <p><b>log P (at pH 10)= 3.8</b></p>	<p><b>Desipramine</b></p>  <p><b>log P (at pH 10)= 3.8</b></p>
<p><b>Amitriptyline</b></p>  <p><b>log P (at pH 10)= 4.8</b></p>	<p><b>Trimipramine</b></p>  <p><b>log P (at pH 10)= 4.8</b></p>

**Figure S1.** Chemical structure of the four antidepressants drugs studied in this work. The logarithm of octanol/water partition coefficients (log P) for all the analytes at the working pH are also shown (source [www.chemspider.com](http://www.chemspider.com)).

#### 4. Effect of the dips into the sorption capacity of the phase



**Figure S2.** Effect of the number of dips into the extraction recovery of the target analytes.



# BLOQUE V



## Resultados y discusión



A continuación, se discuten los resultados más relevantes obtenidos a lo largo del desarrollo experimental de la presente Tesis Doctoral.

Como se ha descrito anteriormente, el tratamiento de muestra es una de las etapas más críticas en el proceso de medida químico. Esta Tesis Doctoral se ha centrado en la simplificación del tratamiento de muestra mediante el diseño de diferentes formatos planos de extracción basados en el uso de papel como soporte inerte. Estos formatos se han empleado como sorbentes para microextracción en fase sólida.

Como se ha descrito en el **Bloque I**, el papel se caracteriza por ser plano y poroso formado por fibras de celulosa parcialmente empaquetadas. Es un material con una alta superficie activa y que presenta una serie de propiedades inherentes (disponibilidad, bajo precio, sostenibilidad) que lo hacen interesante para el desarrollo de aplicaciones analíticas. De hecho, se ha empleado en el desarrollo de los denominados *microfluidic paper-based analytical devices* ( $\mu$ PADs) que son dispositivos muy útiles en muchos campos, pero especialmente en el diagnóstico rápido de enfermedades y monitorización de éstas. Además, la integración de estos dispositivos con la tecnología de los *smartphones* ha abierto la puerta a un desarrollo aún mayor de estas estrategias.

El papel es un material común en el laboratorio de Química Analítica, que se emplea en separaciones físicas de materiales debido a su resistencia mecánica y porosidad. Dependiendo de su uso específico, existen diferentes tipos de papel, siendo el papel de filtro el más barato y sencillo de todos ellos.

En esta Tesis Doctoral se ha empleado el papel como soporte para la preparación de soportes planos que puedan utilizarse en microextracción en fase sólida y concretamente en la modalidad de *thin film microextractions*.

La discusión de los formatos propuestos se divide en dos apartados principales en función de la unidad de extracción utilizada:

- **Soportes planos integrados en una punta de micropipeta.** En esta sección se tratará la síntesis y caracterización de dos soportes con diferente recubrimiento, pero inmovilizados en el interior de una punta de micropipeta. Estos sorbentes se aplican a la resolución de problemas bioanalíticos.
- **Soportes planos integrados en un vial.** En este apartado se presentarán formatos planos con diferente recubrimiento y que se han empleado en la resolución de problemas ambientales y bioanalíticos.

Los formatos propuestos se resumen en la Figura 1.







FORMATOS PLANOS			
EN PUNTA DE MICROPIPETA		EN VIAL	
Recubrimiento		Recubrimiento	
Poliestireno	Nanocuernos de carbono	Nanocomposites	Líquido (poli)iónico
		<div> <div>Nanopartículas TiO<sub>2</sub> + naïlon</div> <div>Nanotubos de carbono + policloruro de vinilo</div> </div>	
		  	

Figura 1. Clasificación de unidades de microextracción con formato plano en función del dispositivo usado y recubrimiento empleado.

## **V. 1. Soportes planos integrados en puntas de micropipeta**

### **V. 1. 1. Soporte planos de poliestireno como sorbente en microextracción en *thin film***

La síntesis de soportes planos recubiertos con poliestireno (PS) sigue un procedimiento que se caracteriza por su simplicidad y bajo coste. En esencia, consiste en sumergir secciones de papel de filtro de dimensiones definidas (3 x 1 cm) en una disolución de PS preparada en cloroformo. La síntesis no requiere de una polimerización previa ya que el PS empleado proviene de la reutilización de envases alimentarios. Tras la extracción del papel de la disolución, el polímero queda depositado físicamente sobre su superficie debido a la evaporación rápida del disolvente. La poca cantidad de disolvente empleado así como el origen del polímero fortalecen el carácter *ecofriendly* de este sistema de síntesis.

Se realizaron una serie de pruebas preliminares para estudiar la deposición uniforme del polímero sobre la superficie del papel. Para la caracterización de las membranas se eligió la técnica de espectroscopía de infrarrojo (IR), debido a que como se observa en la Figura 2 las bandas características tanto del PS como del papel de filtro están situadas en diferentes zonas del espectro. El PS posee un espectro de absorción de IR bien definido (Figura 2A), donde entre todas las bandas se pueden resaltar las obtenidas a  $696\text{ cm}^{-1}$  y  $756\text{ cm}^{-1}$  (bandas de flexión C - H fuera del plano),  $1452\text{ cm}^{-1}$  y  $1492\text{ cm}^{-1}$  (C - C vibraciones de estiramiento en el anillo aromático), y las regiones inmediatamente por debajo (vibraciones de estiramiento asimétricas y simétricas de grupos metileno) y por encima (vibraciones de estiramiento C - H aromáticas)  $3000\text{ cm}^{-1}$ .

Las bandas características del papel de filtro se muestran en la Figura 2B, y pueden destacarse las bandas a  $3334\text{ cm}^{-1}$  (vibraciones de estiramiento OH),  $2897$



$\text{cm}^{-1}$  (vibraciones de CH estiramiento simétrico) y  $1161 \text{ cm}^{-1}$  (vibraciones de estiramiento C - O - C asimétrico). Además, existe una absorción intensa en la región de  $1033 \text{ cm}^{-1}$  (estiramiento C - O). Por último, en la Figura 2C se puede observar el espectro de absorción del papel modificado. En ese espectro pueden observarse las bandas características de cada uno de los componentes, lo que indica el éxito de la síntesis.

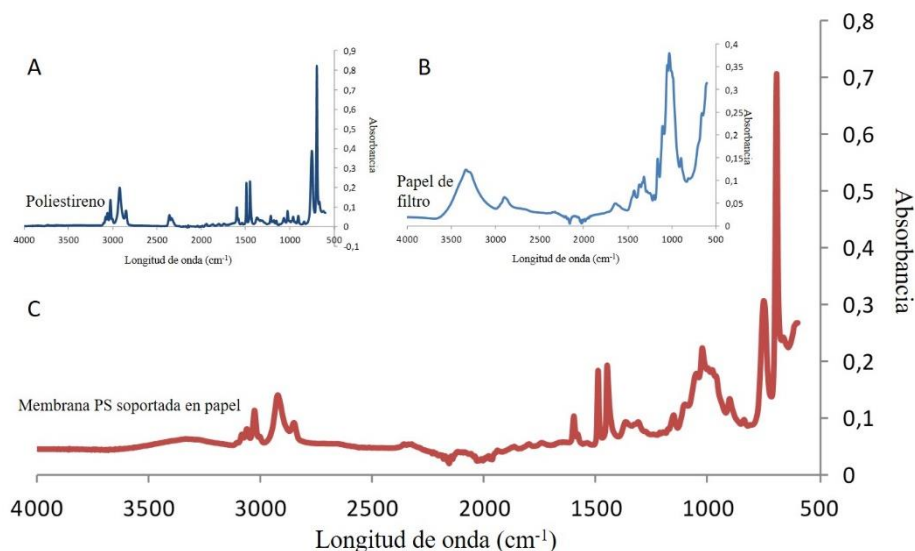


Figura 2. Espectro de absorción IR de PS (A), de papel de filtro (B) y del papel recubierto con PS (C).

Para la evaluación de la homogeneidad del recubrimiento polimérico se estableció un Factor (F) que tiene en cuenta la absorbancia a dos números de onda distintos,  $696 \text{ cm}^{-1}$  y  $1033 \text{ cm}^{-1}$  característicos del PS y papel, respectivamente.

$$\frac{A_{1033}}{A_{696}}$$

La dirección de inmersión del papel en la disolución de PS fue la primera variable en considerarse. Para ello, y empleando una disolución de PS al 0.5% (p/v) y un

número de inmersiones de 4, se sintetizaron soportes sin cambiar la dirección de inmersión e invirtiendo la dirección entre inmersiones. Las membranas obtenidas se analizaron en 8 localizaciones diferentes por triplicado y se calculó F en cada punto.

En la Figura 3A se puede observar cómo los valores de F en el soporte plano en el que no se modifica la dirección de inmersión tienen una gran variabilidad. La desviación estándar relativa de todas las medidas es del 33%. De hecho, el factor F crece a medida que se desciende en el soporte debido a la acumulación del polímero en la parte inferior. Esto se debe a que la gravedad desplaza la disolución de PS ya que la evaporación del cloroformo no es instantánea. Los valores de F que se observan en la parte superior del soporte son idénticos a los observados en el papel puro, lo que indica una deposición nula de PS en esa zona.

Cuando se cambia la dirección de inmersión del papel durante la síntesis, la precisión de las medidas mejora ( $RSD= 3.6\%$ ) lo que demuestra que el recubrimiento es más homogéneo. Esta mayor homogeneidad puede deducirse a partir de los datos del factor F en la Figura 3B.

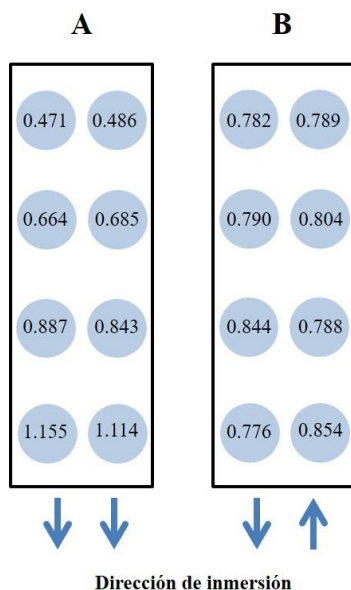


Figura 3. Esquema de la influencia de la dirección de inmersión del recubrimiento del soporte.

Tras la elección del modo óptimo de síntesis se procedió a estudiar el efecto de la concentración de PS. Para ello se fijó un número de inmersiones constante (4) y se evaluaron diferentes concentraciones de PS, a saber: 0.5, 1, 2 y 3% (p/v) de PS. Las membranas se analizaron por microscopía SEM y el resultado obtenido muestra que conforme se aumenta la concentración de PS, las fibras del papel se recubren de una capa de polímero cada vez más gruesa que las hacen menos visibles (Figura 4).

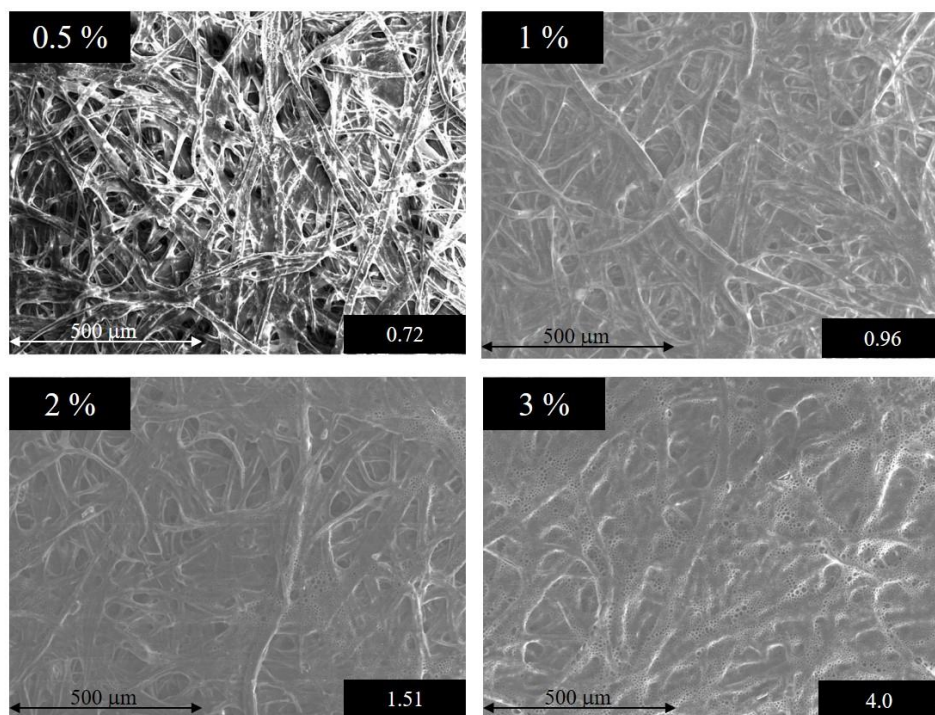


Figura 4. Imágenes SEM de formatos planos sintetizados usando diferente concentración de poliestireno. El valor promedio del Factor  $F$  se muestra en la esquina inferior derecha.

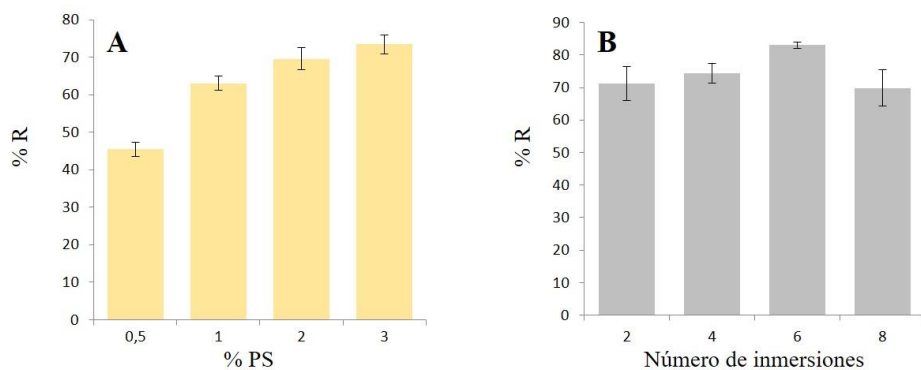
Una vez sintetizados estos formatos planos de extracción, se evaluó su capacidad para aislar el analito modelo. Para ello, se incubaron secciones de  $0.5 \text{ cm}^2$  de cada material con 1 mL de una disolución de metadona a una concentración de 1 mg/mL en agua durante 30 min a temperatura ambiente, tal y como se muestra en la Figura 5. El pH de la disolución se ajustó a 10 para favorecer la interacción analito-PS. Finalmente el extracto se analizó por CL.



*Figura 5. Procedimiento seguido para las pruebas preliminares de evaluación del sorbente.*

Los resultados indicaron que un aumento de la concentración de PS produce una mejora significativa en las recuperaciones del analito. Debido a esto se eligió finalmente como concentración óptima la de 3%, tal y como se muestra en la Figura 6A. No fue posible aumentar dicha concentración puesto que la disolución polimérica se satura de PS lo que compromete la homogeneidad del recubrimiento.

El número de inmersiones del papel en la disolución precursora de PS fue otra de las variables estudiadas. Para ello se preparó una disolución del 3% de PS y se ensayaron 2, 4, 6 y 8 inmersiones. Los mejores resultados se obtuvieron con 6 inmersiones (Figura 6B). Estas condiciones permiten un recubrimiento casi completo del papel pero aprovechan de forma muy efectiva la superficie nativa de éste. Todos los materiales sintetizados con diferente concentración de PS se analizaron también por microscopía SEM.



*Figura 6. Variación de las recuperaciones de extracción con (A) diferente concentración de poliestireno y (B) con distinto número de inmersiones.*

Las imágenes, que se muestran en la Figura 7, revelan un recubrimiento paulatino de las fibras de papel conforme se aumenta el porcentaje de PS. Además, se perciben pequeños orificios en la superficie producidos por la rápida evaporación del cloroformo.

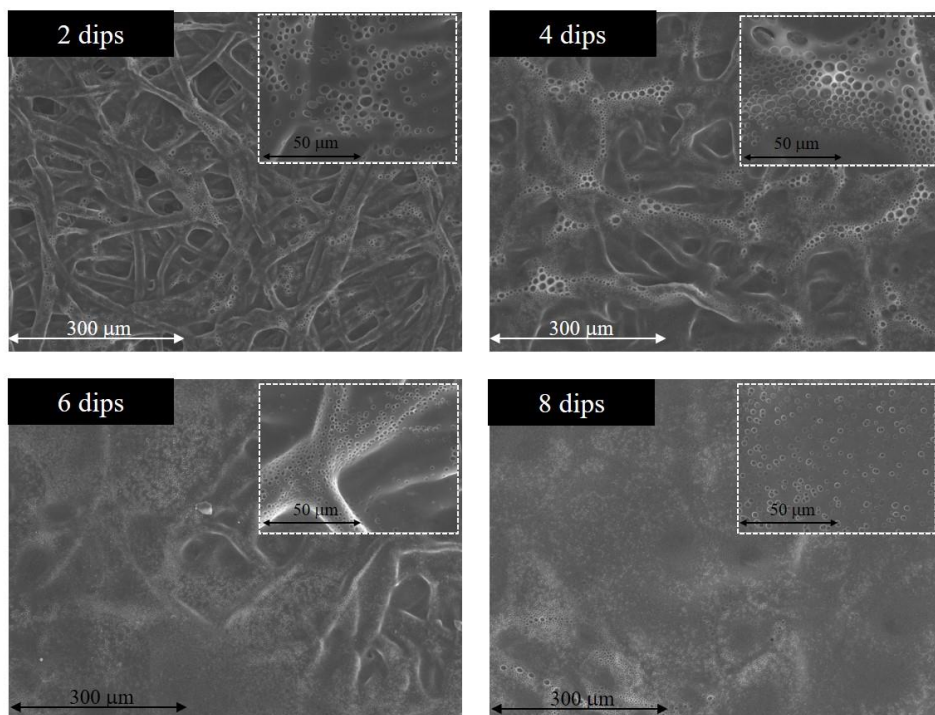


Figura 7. Imágenes SEM de los soportes sintetizados con 3% de poliestireno y diferente número de inmersiones.

La evaluación analítica final se llevó a cabo cortando secciones de 0.5 cm<sup>2</sup> e inmovilizándolas en el interior de una punta de micropipeta donde se quedan fijas mecánicamente en su parte más angosta. Las ventajas de la inmovilización en el interior de la punta de micropipeta son diversas: mejora de reproducibilidad de las extracciones; facilita la extracción de pequeños volúmenes de muestra de disolventes orgánicos; y reduce el contacto del operador con muestras y disolventes.

Como se describe en el **Capítulo 1**, algunas de las variables se fijaron inicialmente tras la evaluación preliminar del problema analítico. Se eligió 200 μL como volumen de extracción ya que ésta es la capacidad máxima de la punta de la micropipeta. De acuerdo con el coeficiente octanol/agua de la metadona, el

pH de las muestras se ajustó a 10 con el fin de asegurar la interacción hidrofóbica entre el analito y el recubrimiento de PS. El hexano se eligió como el mejor eluyente por su rendimiento cromatográfico. Por último, el volumen de eluyente se fijó en 100  $\mu\text{L}$  para que cubriera por completo la membrana. El procedimiento llevado a cabo se describe gráficamente en la Figura 8.

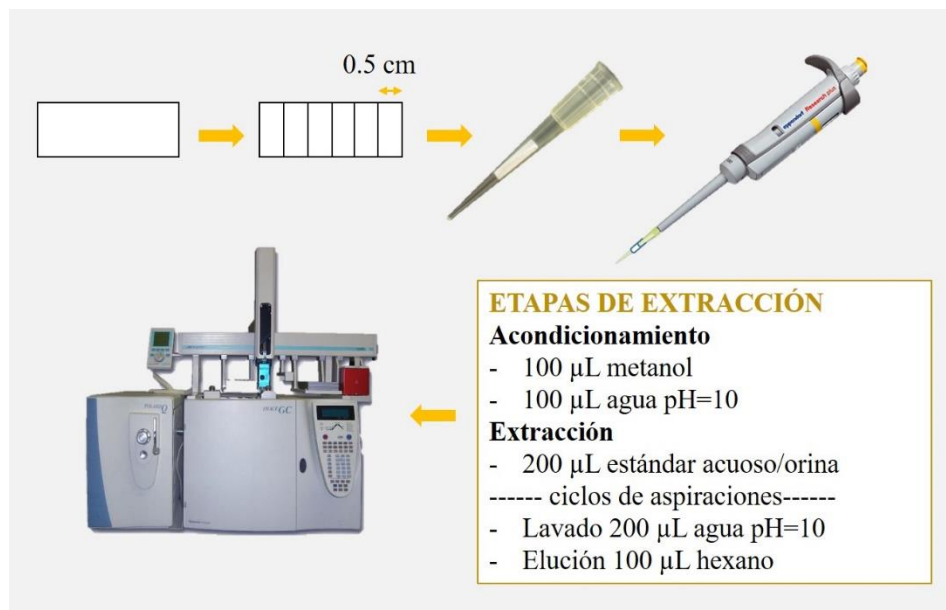
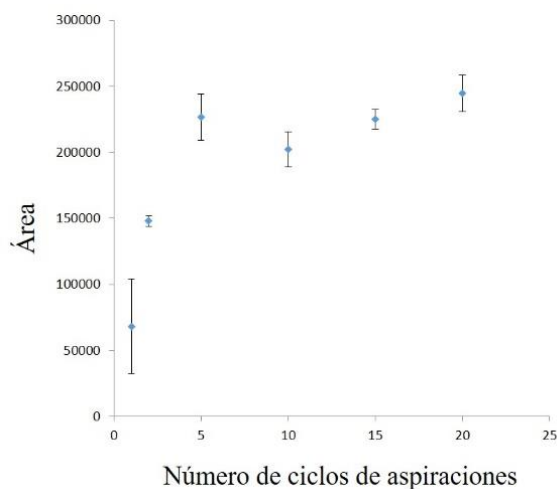


Figura 8. Procedimiento extracción inicial para la optimización de número de ciclo de aspiraciones.

Partiendo de estas condiciones, se estudió en profundidad el número de aspiraciones (*strokes*) para asegurar el contacto íntimo muestra-soporte plano. Para ello, se preparó una disolución de analito de 500 ng/mL y se hicieron varios ciclos de aspiraciones (de 1 a 20) con el sistema propuesto. Después de esto se lavó la membrana con agua a pH=10 y finalmente se eluyó con hexano. Los resultados mostraron un incremento de la señal de 1 a 5 *strokes* de elución no produciéndose ninguna mejora de la señal a partir de dicho valor (Figura 9). Para



asegurar la total extracción del compuesto se eligió un número de aspiraciones de 20 para estudios posteriores.



*Figura 9. Evolución del área de pico con respecto al número de aspiraciones.*

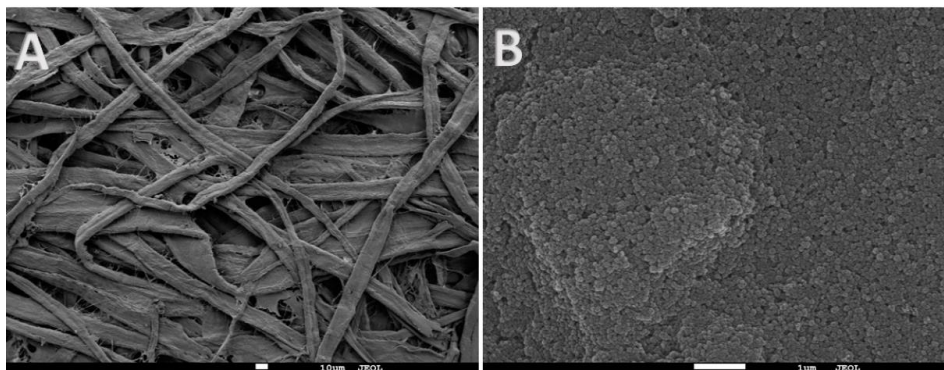
Finalmente, se construyeron dos rectas de calibrado (empleando patrones y blancos fortificados) cuyo intervalo fue de 10 a 1000  $\mu\text{g/L}$  de metadona. Dichas curvas de calibrado mostraron una pendiente diferente indicando por tanto la presencia de efecto matriz en la extracción probablemente debido a la fuerza iónica diferente de ambos medios. El aumento de la concentración de sales en el medio aumenta la viscosidad de la muestra y por tanto afecta a la transferencia de materia afectando así a la cinética de la extracción.

Sin embargo, la recta de calibrado en matriz posee una buena linealidad ( $R^2=0.9986$ ) y un buen ajuste para las muestras reales con recuperaciones relativas de hasta el 106% y una desviación estándar relativa (RSD) del 14%.

## **V. 1. 2. Superestructuras de nanocuernos de carbono (SWCNHs) soportada sobre papel**

El uso de nanomateriales como fases sorbentes está muy extendido debido a las propiedades extraordinarias que presentan. Entre ellas cabe destacar el área superficial, que es muy superior a la de los sorbentes micrométricos. Los SWCNHs consisten en una lámina de grafeno plegada que da como resultado una forma de cuerno, cuya longitud oscila entre 40 y 50 nm y un diámetro no mayor de 5 nm. Además, forman espontáneamente agregados estables en forma de dalias, que mantienen las dimensiones nanométricas [1].

En el **Capítulo 5** de esta Memoria se utilizan SWCNHs para la síntesis de un nuevo formato de extracción plano. El proceso de síntesis es simple ya que sólo requiere de la preparación de una dispersión del nanomaterial en cloroformo, en la cual se sumerge un segmento de papel. Tras la extracción del papel y la evaporación del disolvente orgánico se crea una superestructura consistente en dalias autoensambladas sobre la superficie del papel. El efecto del nanomaterial sobre la superficie del papel queda documentado en la Figura 10 mediante imágenes SEM. En ellas puede observarse, por un lado, el aspecto fibroso del papel original y, por otro, el cambio superficial provocado por la deposición de la superestructura sobre su superficie. El recubrimiento es tan completo que no se observan las fibras de la celulosa y sin embargo se ve claramente las dalias de esférica y masificada en toda la superficie.



*Figura 10. Imagen SEM de (A) la superficie de papel puro y (B) de soporte recubierto con nanocomposite.*

Para conseguir un recubrimiento lo más completo posible del papel se estudió el número de inmersiones, de forma parecida (Figura 11) a como se desarrolló en la síntesis de las membranas de PS del **Capítulo 1**. Pese a la similitud de la metodología, en este caso fue algo más complicado por la agregación de los nanocuernos y la rápida evaporación del cloroformo. Tras el recubrimiento, se evaluó la estabilidad mecánica de las membranas. Para ello se sonicaron en presencia de metanol comprobándose después que no había ningún tipo de desprendimiento del recubrimiento. Aun así, después de la elaboración de las membranas siempre se llevó a cabo un lavado con metanol para comprobar la resistencia de la capa de nanomaterial generada.

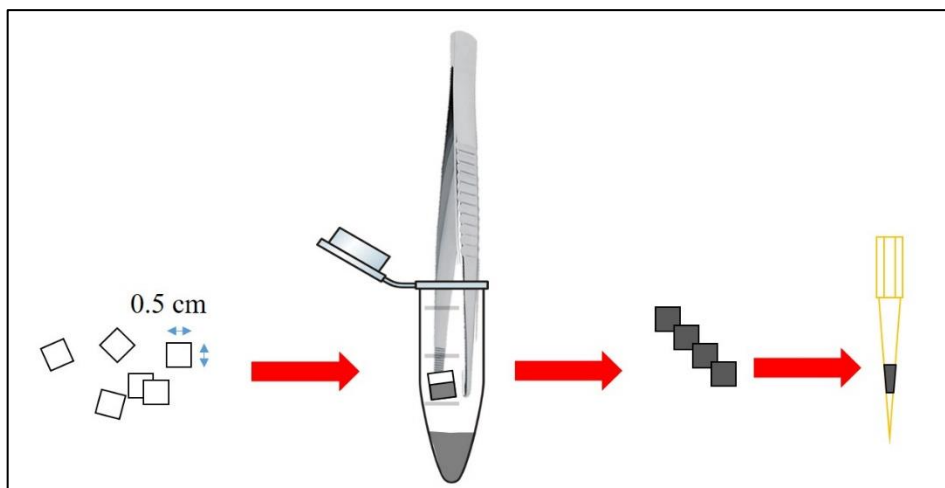


Figura 11. Esquema del proceso de recubrimiento de papel con SWCNHs.

Se recubrieron membranas con 1, 2 y 3 inmersiones, y se caracterizaron mediante microscopía SEM (Figura 12). Gracias a las imágenes obtenidas se pudo determinar que el revestimiento oscilaba entre 84 y 190  $\mu\text{m}$  y que este grosor se incrementaba con el número de inmersiones del papel en la disolución de nanocuernos. El espesor está íntimamente relacionado con la capacidad de extracción, como pudo corroborarse con las primeras pruebas de extracción ya que las mejores recuperaciones se obtuvieron para las membranas cuyo número de inmersiones fue 3. Esto da una idea de que no sólo interviene la capa superficial de recubrimiento, sino que también está involucrada la estructura interna del nanomaterial, ya que el analito se difunde a través de la misma gracias a los poros que quedan en su interior.

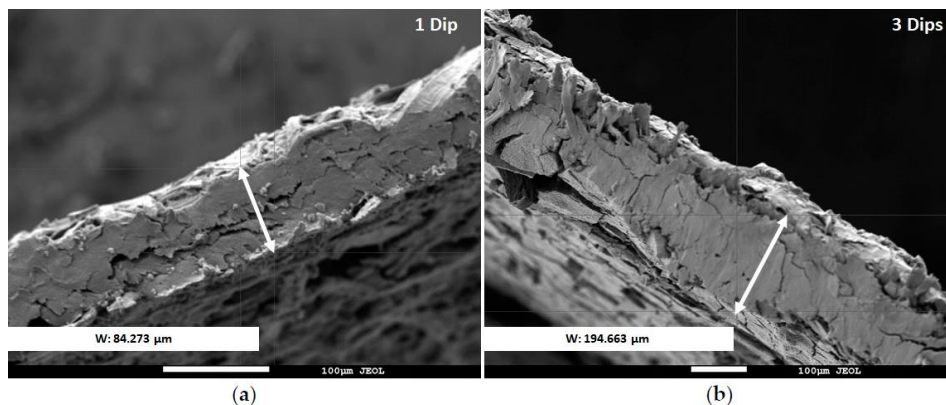


Figura 12. Imagen SEM del perfil lateral de las fases de adsorción sintetizadas después de (a) una inmersión (a 270 aumentos) y (b) tres inmersiones (a 140 aumentos).

Por otra parte, también se evaluó la capacidad de reutilización del material. Atendiendo a los resultados experimentales, puede concluirse que dicho material no pierde capacidad extractiva tras reutilizarse más de 100 veces. La explicación se debe a que la primera capa de nanocuernos queda ocluida en la estructura porosa de las fibras de celulosa mientras que las capas sucesivas se estabilizan mediante interacciones no covalentes ( $\pi$ - $\pi$ ), confiriendo así a la membrana una gran resistencia y estabilidad. Este aspecto es realmente interesante ya que reduce sobremanera los gastos asociados a la síntesis.

Se optimizaron tres parámetros determinantes para la extracción de los analitos de interés como son el número de aspiraciones durante la extracción, el volumen de extracción y número de aspiraciones de la elución. La optimización se llevó a cabo de forma univariante.

En primer lugar, se optimizó el número de aspiraciones de extracción, evaluando de 5 a 100 aspiraciones. Los resultados indicaron una mayor extracción del analito a medida que se aumentaba el número de aspiraciones. Sin embargo, a partir de 80 ciclos de aspiración la extracción del analito decae (Figura 13) por lo

que seleccionó este valor como óptimo. El hecho de que sean necesarios tantos ciclos de aspiración para la extracción del analito indica que la difusión de éstos no es fácil. Este hecho se atribuyó a dos causas diferentes. Por un lado, el medio de extracción tiene un área limitada y debido a la geometría de la unidad de extracción, una gran parte de la muestra no se pone en contacto directo con él. Por otro lado, solo una de las caras es explotada en la extracción debido a que el medio de extracción se fija a una de las paredes de la punta de micropipeta.

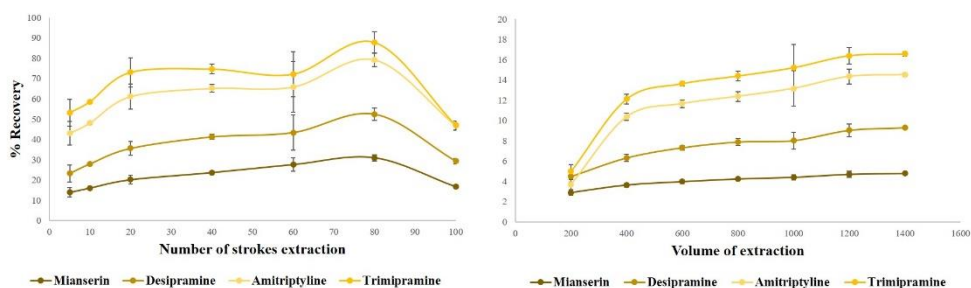


Figura 13. Efecto del número de aspiraciones (A) y el volumen de extracción (B) sobre la extracción para los soportes de nanocuernos inmovilizados en punta de pipeta.

El volumen de extracción, que se evaluó en el intervalo de 200 a 1400  $\mu\text{L}$ , también tiene un papel relevante en la extracción. De hecho, cuanto mayor es el volumen de muestra, mayores son las recuperaciones obtenidas (Figura 13B). El valor seleccionado como óptimo fue de 1200  $\mu\text{L}$ , no encontrándose diferencias relevantes con respecto a valores superiores. Una de las principales ventajas de este dispositivo es el hecho de poder trabajar con volúmenes pequeños, ya que lo hacen ideal para trabajar con muestras biológicas tales como saliva.

Por último, también se optimizó el número de aspiraciones para la elución. En este caso el resultado fue algo diferente, ya que con tan solo 10 ciclos de

aspiración se conseguían buenas recuperaciones, no habiendo mejoras sustanciales con un número de aspiraciones superiores.

Para la evaluación analítica se llevó a cabo la determinación de cuatro antidepresivos (desipramina, amitriptilina, mianserina y trimipramina) para lo cual se utilizaron dos instrumentos: UPLC-DAD e infusión directa a MS. Para el primero se construyó una recta de calibrado (10-1500  $\mu\text{g/L}$ ) para cada analito. Para la desipramina, amitriptilina y mianserina se obtuvo una buena linealidad ( $R^2 > 0.995$ ) mientras que la trimipramina presentó un valor ligeramente inferior ( $R^2 > 0.989$ ). Los límites de detección se calcularon teniendo en cuenta una relación señal/ruido de 3, dando como resultado un valor de 0.1  $\mu\text{g/L}$  para la desipramina, amitriptilina y mianserina. Sin embargo, la trimipramina presentó un valor algo superior (0.2  $\mu\text{g/L}$ ). La RSD (repetitividad del método) osciló entre 3.8% a 7.4%. El análisis de muestras de orina no proporcionó buenas recuperaciones (50-60%), por lo que se diluyeron 1:1 en agua para reducir el efecto matriz. El análisis de muestras de orina diluidas proporcionó valores de recuperaciones en el intervalo de 70-130%.

Para los análisis realizados mediante infusión directa a MS se utilizó ácido 5-hidroxiindoleacético-D5 como estándar interno. Se construyó una recta de calibrado para cada uno de los analitos (0.1-10  $\mu\text{g/L}$ ) usando seis niveles de concentración que se analizaron por triplicado. Además, se usó orina diluida 1:1 en agua como matriz. Se obtuvo una buena linealidad para tres de los analitos ( $R^2 > 0.993$ ) aunque para la trimipramina se obtuvo una peor linealidad ( $R^2 > 0.9$ ). Los límites de detección calculados para desipramina, amitriptilina y mianserina fueron de 10 ng/L. La precisión en la determinación de desipramina, amitriptilina y mianserina, expresada como RSD, fue del 7.2%, 7.3% y 9.8%, respectivamente.

### V. 1. 3. Evaluación conjunta de las metodologías utilizadas para soportes planos en punta de micropipeta

En la **Tabla 1** se establece una comparación entre los dos materiales utilizados en el **Capítulo 1** y **5**, donde se destacan los parámetros más relevantes y los resultados más destacados de ambas metodologías propuestas y basadas en soportes planos inmovilizados en puntas de micropipeta.

*Tabla 1. Comparación de las metodologías desarrolladas en los Capítulos 1 y 5.*

	Capítulo 1	Capítulo 5
<b>Muestra</b>	Orina	Orina
<b>Analito</b>	Metadona	Antidepresivos
<b>Modalidad</b>	TFME	TFME
<b>Caracterización</b>	IR, SEM	SEM
<b>Tipo de Recubrimiento</b>	Poliestireno	Nanocuernos
<b>Superficie</b>	0.5 cm <sup>2</sup>	0.25 cm <sup>2</sup>
<b>Aspiraciones extracción</b>	20	80
<b>Aspiraciones elución</b>	5	10
<b>Volumen de muestra (μL)</b>	200	1200
<b>Técnica instrumental</b>	GS/MS	Infusión directa MS
<b>R<sup>2</sup></b>	0.9986	0.993
<b>Límite de detección</b>	3 μg/L	10 ng/L
<b>Precisión (% RSD )</b>	14	7.2-9.8

## **V. 2. Microextracción con soportes planos inmovilizados en viales**

### **V. 2. 1. Soportes planos recubiertos con *nanocomposites***

Como se mencionó en el **Bloque I**, un *composite* puede definirse como la mezcla de dos o más materiales que poseen diferente naturaleza. Un *nanocomposite*, en



cambio, es aquel material compuesto que contiene un elemento de carácter nanométrico. Si, además, el componente micrométrico es un polímero puede hablarse entonces de *nanocomposite* polimérico [2]. El nanomaterial va a dotar al tándem de propiedades especiales mientras que el polímero aporta estabilidad mecánica a la estructura y puede participar también en el proceso de extracción.

En los **Capítulos 3 y 4** se proponen dos formatos planos de extracción basados en el recubrimiento de papel con un *nanocomposite*, uno basado en el uso de nailon y nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  y el otro en policloruro de vinilo (PVC) y nanotubos de carbono.

### **V. 2. 1. 1. *Nanocomposites* de nailon y nanopartículas de $\text{TiO}_2$**

Para la preparación de los soportes, se preparó una disolución de nailon-6 al 3% en ácido fórmico y se dispersaron después en ese medio nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  hasta alcanzar una concentración del 4% (p/v). Para la síntesis, se sumergieron secciones de papel de 1 x 3 cm en la dispersión. La metodología seguida, es por tanto similar a la descrita en el **Capítulo 1**. Las fases obtenidas se caracterizaron mediante microscopía SEM comparando la superficie del papel original con las del papel recubierto solo con nailon y por último con la del papel recubierto con el *nanocomposite* polimérico. Las fotografías obtenidas se muestran en la Figura 14 y permiten apreciar cómo se recubren por completo las fibras de celulosa del papel original. Además, como se ve en la Figura 14C, la presencia de las NPs actúa como agente de nucleación (es fácil percibir la forma esférica de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ ) modificando por completo el recubrimiento.

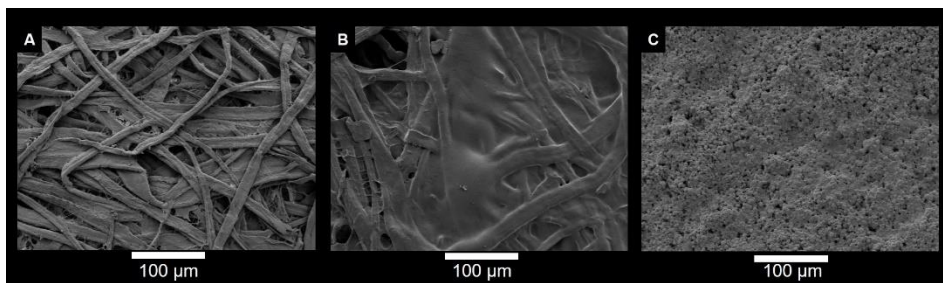


Figura 14. Imágenes SEM de (A) papel puro, (B) papel recubierto con nailon y (C) papel recubierto con nanocomposite.

Los soportes modificados también se caracterizaron por IR. El material mostró las bandas características del papel tal y como se describió en el **apartado 1.1** de este mismo bloque. Las principales diferencias radican en las bandas de la región  $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a la presencia del nailon. La banda de absorción a  $1637\text{ cm}^{-1}$  se debe al enlace amida I, cuya contribución viene del estiramiento  $\text{C=O}$ . La banda  $1541\text{ cm}^{-1}$  corresponde al enlace amida II, debida a la deformación  $\text{NH}$  [3,4].

Para demostrar la homogeneidad de la superficie de las membranas se procedió de la misma manera que en el **Capítulo 1**. Se calculó la relación de absorbancia entre  $1637\text{ cm}^{-1}$  (banda amida I del nailon) y  $1033\text{ cm}^{-1}$  (banda de  $\text{CO}$  del papel). Con los resultados obtenidos se evidenció la distribución homogénea del *nanocomposite* sobre la superficie del papel. En el caso del papel recubierto de nailon, la banda  $\text{CO}$  del papel es muy evidente, lo cual nos da información de que hay mucho papel sin modificar disponible dentro del campo evanescente de radiación IR (Figura 15). La presencia de nanopartículas en el interior de la matriz polimérica contribuye a una mejor cobertura de las fibras de celulosa como bien puede observarse en la Figura 15B, donde la relación polímero-nanomaterial/papel es mayor que en el caso del papel solo o el papel con nailon.

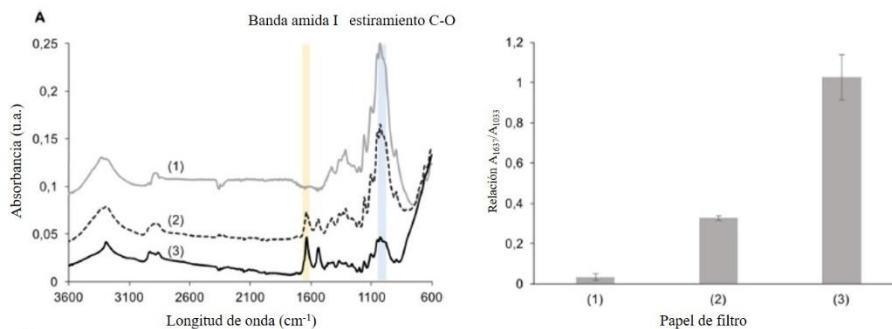


Figura 15. (A) espectros IR y (B) gráfico de la banda de amida I de relación de absorbancia ( $1637\text{ cm}^{-1}$ ) frente al estiramiento de CO ( $1033\text{ cm}^{-1}$ ) para (1) papel de filtro, (2) papel con nailon y (3) papel con nanocomposite.

Estos soportes se caracterizaron también por espectroscopía Raman que corroboró los resultados anteriores. Se pudo medir la banda característica del papel ( $1096\text{ cm}^{-1}$ ) del soporte. Los espectros Raman están dominados por las bandas de la celulosa, CCC ( $380$  y  $435\text{ cm}^{-1}$ ), vibraciones CCO de los anillos C6 de ésta ( $435$  y  $458\text{ cm}^{-1}$ ), vibraciones CCC del anillo y enlace glucósido ( $520\text{ cm}^{-1}$ ), así como las vibraciones simétricas y enlaces simétricos ( $1096\text{ cm}^{-1}$  y  $1120\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente). La banda de  $1335\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a vibraciones de  $\text{CH}_2$ . Hay una banda  $2980\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $\text{CH}_2$  de flexión y vibraciones de esqueleto que generan una banda en  $1380\text{ cm}^{-1}$ . La amida I del nailon la podemos identificar gracias a la banda  $1648\text{ cm}^{-1}$  (Figura 16).

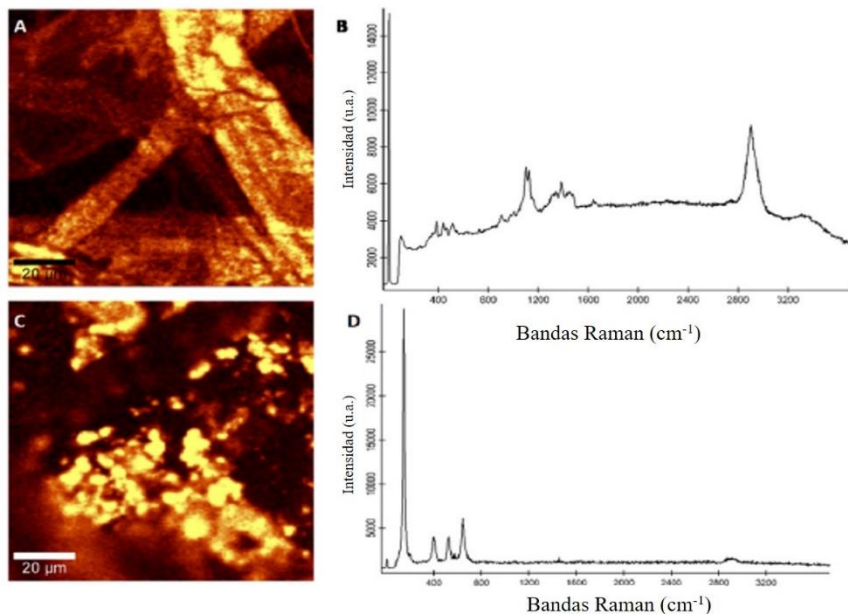


Figura 16. (A) Imagen Raman que representa la intensidad de la banda de celulosa a  $1096\text{ cm}^{-1}$ , de un soporte de celulosa modificado con 3% p/v de nylon; (B) espectro Raman correspondiente; (C) imagen Raman que representa la intensidad de la banda de  $\text{TiO}_2$  a aproximadamente  $144\text{ cm}^{-1}$ , de un soporte con 3% p/v de nylon y 4% p/v de  $\text{TiO}_2$ ; y (D) espectro Raman correspondiente.

Los espectros Raman del soporte recubierto con *nanocomposite* polimérico están claramente dominados por las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  (Figura 16D) [5]. Analizando la banda  $144\text{ cm}^{-1}$  es posible distinguir las regiones donde las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  se depositan, de forma que se puede observar la distribución homogénea del  $\text{TiO}_2$  en el material (Figura 17). A su vez, el material se analizó por termogravimetría que un contenido del 7.5% de  $\text{TiO}_2$ . Dicho valor implica la presencia de 1.7 mg de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  en cada soporte.

Se sintetizaron, además, membranas con diferente concentración de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , concretamente 1 y 4% p/v. Los resultados mostraron una

mejora en el grado de recubrimiento a medida que se aumentaba la concentración de  $\text{TiO}_2$ , tal como se observa en la Figura 17B. Pese a que las fibras pueden ser un obstáculo para la medida por Raman (ya que interfieren en el plano focal), la mayor cobertura de  $\text{TiO}_2$  con la concentración del 4% p/v es más que evidente en la imagen de la Figura 17A.

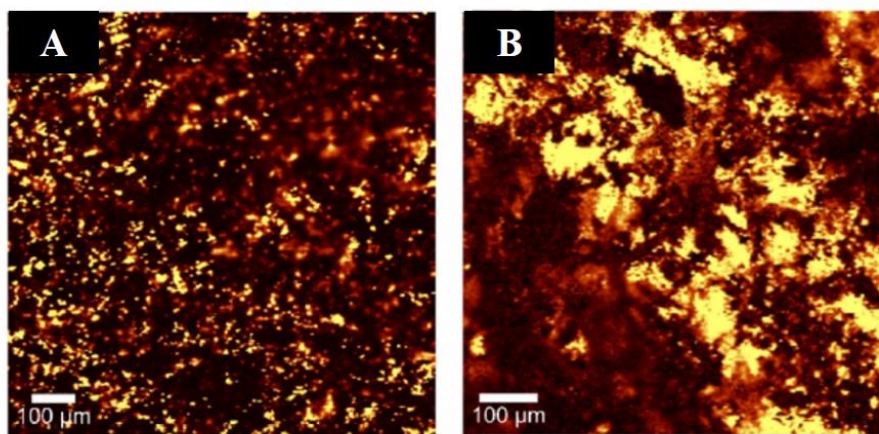


Figura 17. Imágenes Raman que muestran la intensidad de la banda de  $\text{TiO}_2$  a aproximadamente  $1096\text{ cm}^{-1}$ , de papel modificado con 3% p/v de nailon (A) 1% p/v de  $\text{TiO}_2$ , y (B) 4% p/v de  $\text{TiO}_2$ .

Por otra parte, las membranas también se caracterizaron mediante espectroscopía UV-vis. Los resultados mostraron que casi no había diferencias en cuanto a absorbancia entre el papel solo y el papel recubierto con el polímero. No obstante, sí que se encontró una gran diferencia con las membranas que estaban recubiertas con el *nanocomposite* (Figura 18). Curiosamente el espectro de absorción de estas últimas tampoco coincidió con el de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  solas, ya que éstas muestran una gran banda de absorción en torno a 300-400 nm. Esto se puede deber a la interacción entre el  $\text{TiO}_2$  y los grupos amidas del nailon, que desplaza la absorción de la radiación hacia la región visible.

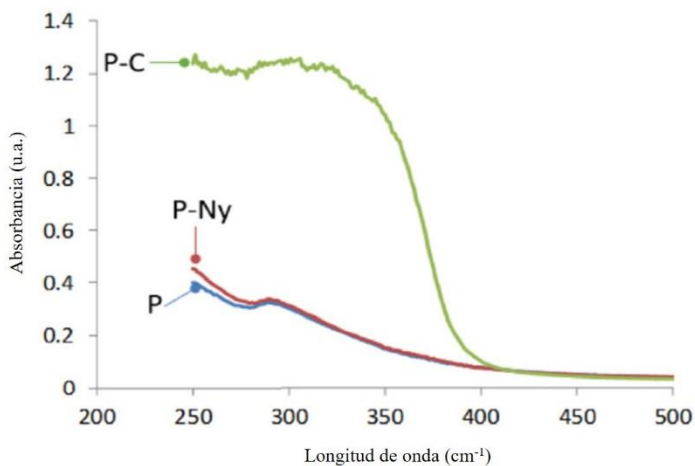


Figura 18. Espectros de absorción UV-visible de papel puro (P), papel con polímero (P-Ny) y papel con nanocomposite (P-C).

Una vez caracterizadas se llevaron a cabo los ensayos de extracción del analito y posterior fotodegradación de este (Figura 19).

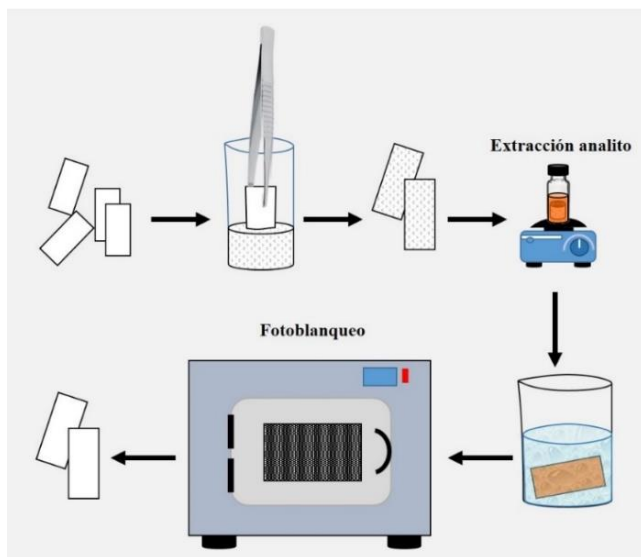


Figura 19. Esquema del proceso de síntesis de membranas, extracción y degradación fotocatalítica del analito.

Esta discusión, por tanto, se dividirá en dos etapas diferentes pero secuenciales:

- **Extracción del analito:** La capacidad de extracción se evaluó para papel solo, papel+nylon, papel+*nanocomposite*. Para ello cada uno de estos materiales se sumergieron en una disolución acuosa de naranja de metilo (NM) saturada. El papel puro se utilizó como referencia y no mostró capacidad alguna de retención del analito. La capacidad extractiva del papel+nylon y papel+*nanocomposite* fue bastante evidente puesto que las fases extractantes tomaron el color anaranjado característico del analito. Las recuperaciones fueron de un 80% (Figura 20), lo que se traduce en una cantidad de 2.1 mg de analito por cada centímetro cuadrado de soporte plano. Para emular las condiciones medioambientales no se modificaron parámetros como la fuerza iónica o el pH durante la extracción.

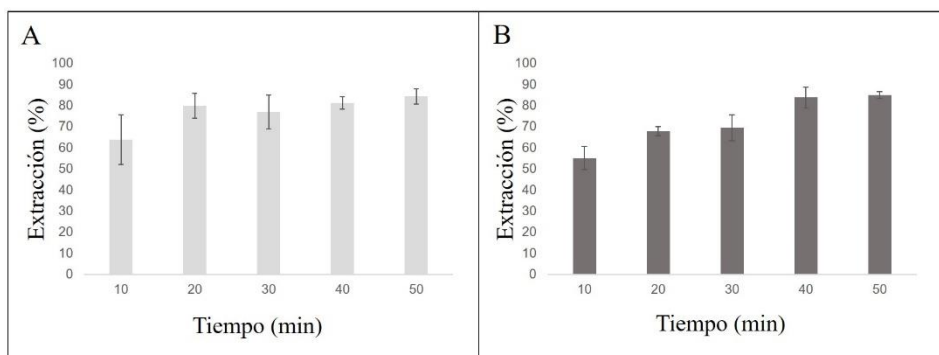


Figura 20. Capacidad de retención utilizando como analito modelo naranja de metilo de (A) papel con polímero y (B) papel con *nanocomposite*.

- **Evaluación de la capacidad fotocatalítica:** Las membranas saturadas de NM se sumergieron en un vaso con agua en una cámara UV (254 nm y 99.9 J/cm<sup>2</sup>) y se mantuvieron, irradiadas durante tiempos definidos. Tras ello, los soportes se secaron y se escanearon. En el caso de los soportes recubiertos de *nanocomposite* hubo una mayor degradación del

contaminante cuanto mayor fue el tiempo (60 min) de exposición a la radiación UV (Figura 21 A y B). En el caso del papel cubierto por nailon hubo disminución de color, pero se atribuyó a la pérdida del analito por elución ya que el agua mostraba un color anaranjado, que no fue observado en los ensayos con el *nanocomposite*. Estos ensayos se repitieron a su vez en presencia de luz solar, mostrando un blanqueamiento más rápido que en la cámara UV, ya que en tan solo 20 minutos se conseguía la completa degradación del contaminante modelo (Figura 21C).

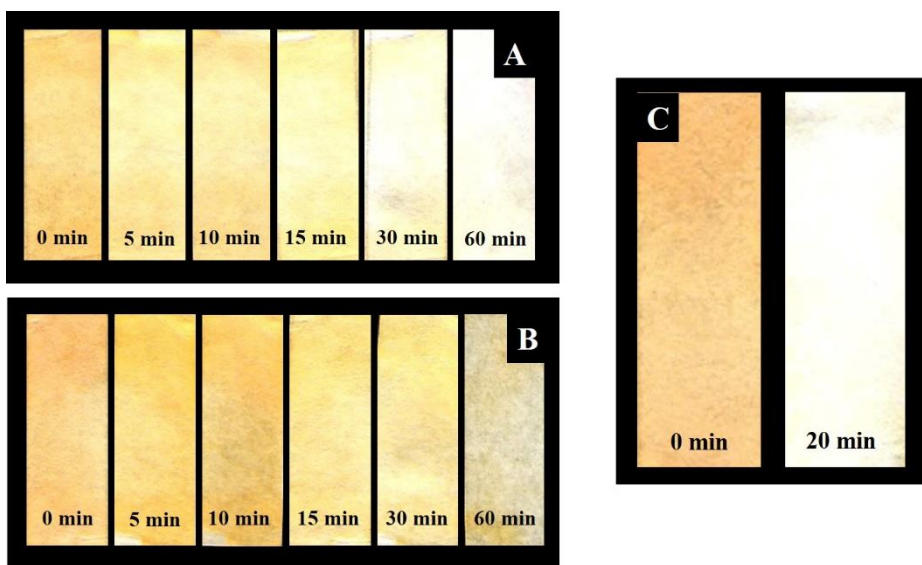


Figura 21. Efecto fotocatalítico en diferentes momentos de exposición (A) papel con nailon, (B) papel con nanocomposite y (C) efecto fotocatalítico en presencia de luz solar de los soportes recubiertos con nanocomposites.

En base a los resultados obtenidos, el soporte recubierto de *nanocomposite* es un material válido para la extracción y posterior degradación del NM en agua en comparación con los materiales recubiertos solo de nailon. La integración de la extracción y el fotoblanqueo en el mismo material facilita la degradación del NM,



haciendo que el proceso sea más fácil y rápido. El polímero desempeña dos funciones en el material ya que por una parte estabiliza mecánicamente las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  y por otra retiene en analito.

### **V. 2. 1. 2. *Nanocomposites* de policloruro de vinilo y nanotubos de carbono**

El acoplamiento directo de las técnicas de tratamiento de muestra con técnicas instrumentales simplifica sobremanera el proceso analítico ya que reduce el tiempo requerido para cada análisis al soslayar la separación cromatográfica. No obstante, la eliminación de esta etapa separativa compromete la selectividad de las medidas que debe contrarrestarse con el sistema de detección empleado. En este contexto, la espectrometría de masas surge como la técnica ideal ya que proporciona niveles de selectividad elevados, al poder discriminar entre analitos, a la vez que permite su cuantificación a muy bajas concentraciones. Debido a que en esta Tesis Doctoral se han desarrollado formatos planos de extracción, se ha seleccionado la modalidad de *paper spray* para este acoplamiento. Así, se ha desarrollado un formato plano de extracción basado en papel y modificado superficialmente con un *nanocomposite* de PVC y nanotubos de carbono que intenta jugar dos roles diferentes pero complementarios. Por un lado, actúan como fase extractante y permiten el aislamiento del analito de interés. Por otro lado, actúa como soporte para la generación del aerosol en el análisis por espectrometría de masas.

La preparación de los soportes requirió cambiar la forma de estos para poder adaptarlos a la etapa de medida. En este sentido, los segmentos que habían sido de forma rectangular hasta ese momento se modificaron en su extremo, haciéndolos triangulares para así enfocar el aerosol a la entrada del espectrómetro. La síntesis, en cambio, siguió el procedimiento habitual y

consistió en la inmersión del papel en una disolución de PVC en tetrahidrofurano conteniendo nanotubos de carbono dispersos. Tras la inmersión y la evaporación del disolvente se crea una capa de *nanocomposite* polimérico sobre la superficie.

Las primeras pruebas de extracción y análisis demostraron que para mejorar la reproducibilidad de los resultados era necesario hacer un recubrimiento de la superficie del papel con PVC antes de depositar el *nanocomposite*. Este prerrecubrimiento mejoraba la estabilidad del aerosol. En la Figura 22 se muestran fotografías SEM de diferentes materiales. En la Figura 22a se observa la superficie del papel sin modificar donde son claramente visibles las fibras de celulosa. Tras el recubrimiento de PVC, tal y como se comprueba en la Figura 22b, estas fibras se cubren parcialmente con el polímero. Finalmente, tras la deposición del *nanocomposite* la superficie del material presenta un recubrimiento mucho más denso y homogéneo. Este comportamiento se ha observado en los *nanocomposites* poliméricos anteriores en los que parece que las NPs actúan como agente de nucleación de la red polimérica.

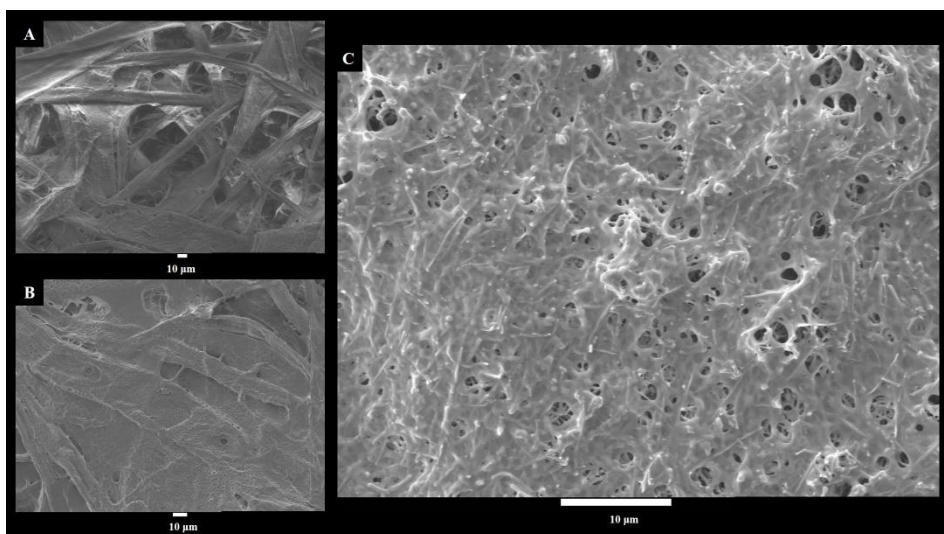


Figura 22. Imágenes SEM de (a) papel puro, (b) papel recubierto con 3% de PVC y (c) papel con recubrimiento previo de 3% de PVC y cobertura posterior de *nanocomposite*.

El recubrimiento de *nanocomposite* es el que realiza la doble función de aislar el analito durante el proceso de extracción y permitir su introducción en el espectrómetro de masas mediante la modalidad de *paper spray*. La altura del recubrimiento es, por tanto, otro aspecto a considerar. La situación ideal sería inmovilizar el *nanocomposite* justo en la punta del soporte para conseguir que la retención de los analitos y la generación del aerosol esté lo más próximo posible. El control en la deposición de pequeñas cantidades de *nanocomposite* es complicado por lo que se optó por cubrir solo la zona triangular del soporte, tal y como se indica en la Figura 23.

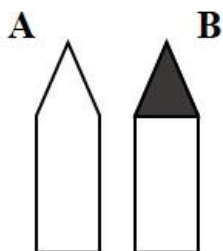


Figura 23. Esquema del (a) soporte completo y de (b) la zona de deposición del *nanocomposite*.

Los soportes sintetizados de esa forma pueden adaptarse fácilmente tanto a la etapa de extracción como a la de análisis por EM. Este último acoplamiento se muestra claramente en la Figura 24. En las fotografías se indica cómo se posiciona el soporte plano a 2 mm de la entrada del espectrómetro de masas empleando una pinza para mantener fija la posición del éste durante el análisis. Esa pinza también se empleará como medio para aplicar un alto voltaje (entre 3 y 7 kV) para generar el electrospray que migrará hacia la entrada del espectrómetro que se encuentra conectada a tierra.



*Figure 24. Acoplamiento de los soportes de extracción a espectrometría de masa para el desarrollo de los análisis por paper spray.*

## **V. 2. 2. Soportes planos recubiertos con líquidos (poli)iónicos**

Los líquidos iónicos son sales orgánicas que permanecen en estado líquido a temperatura ambiente. Suelen estar constituidos por un catión orgánico cuya carga está contrarrestada por un anión que puede ser de naturaleza orgánica o inorgánica. La composición concreta de estos líquidos define sus características químicas. Los líquidos iónicos se han empleado como disolventes en técnicas de extracción debido a su gran capacidad de interacción con diferentes compuestos, pero también por sus propiedades inherentes que los diferencian de los disolventes orgánicos convencionales. Por un lado, presentan una presión de vapor muy baja por lo que pueden calentarse a altas temperaturas sin pérdida por volatilidad, lo que los hace especialmente atractivos como disolventes en desorción térmica. Además, presentan una naturaleza conmutable que permite cambiar sus propiedades químicas por la simple sustitución del anión en su estructura.

Originalmente, y debido a su estado líquido, se emplearon como disolventes en microextracción en fase líquida. La descripción de los líquidos iónicos poliméricos (PIL), en cambio, abrió una puerta a su aplicación como sorbentes en microextracción en fase sólida. La forma más usual de sintetizar estos PIL es la polimerización directa de monómeros que contiene grupos de líquidos iónicos como sustituyentes. La reacción de Radziszewski, que, aunque descrita no se ha empleado extensamente para la obtención de PILs con fines analíticos, permite la síntesis de estos materiales en condiciones suaves y empleando reactivos de toxicidad reducida. Esta reacción implica una policondensación de diaminas en presencia de glioxal, ácido acético y formaldehído para crear una cadena polimérica en la que el anillo imidazolio aparece en el monómero y no como sustituyente de este (ver Figura 25).

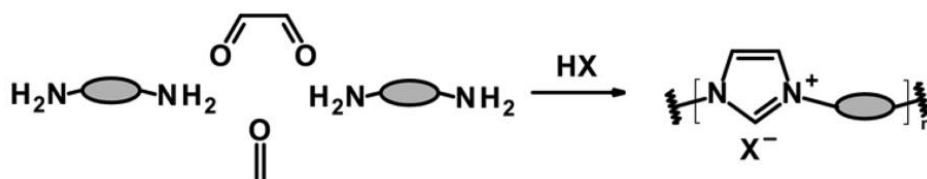
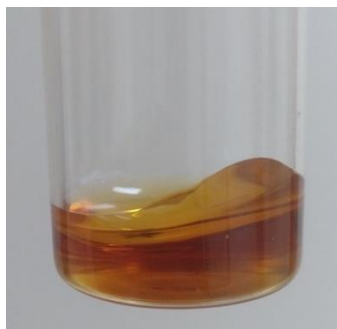


Figura 25. Policondensación de diaminas para la formación de PILs mediante la reacción de Radziszewski.

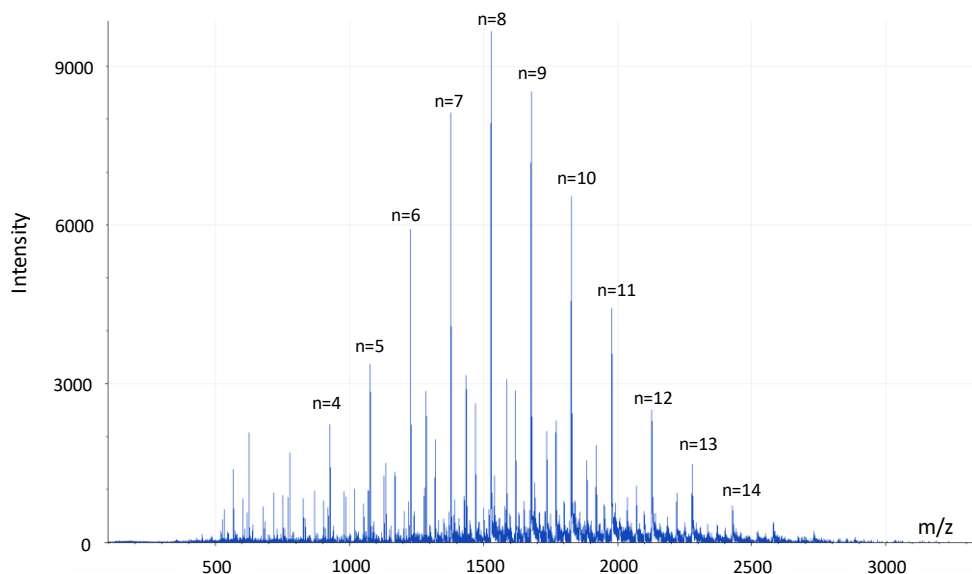
En esta Tesis Doctoral se han sintetizado PILs mediante la reacción de Radziszewski con el objetivo final de inmovilizarlos en la superficie del papel de filtro y poder usarlos, así como fase sorbente en microextracción. Aunque la reacción puede desarrollarse a temperatura ambiente, se ha observado que un aumento de la temperatura permite alcanzar un grado de polimerización algo mayor. Así, en la síntesis propuesta se prefiere trabajar a 60 °C en vez de a temperatura ambiente. Tras el periodo de incubación se obtiene un líquido de color marrón claro que tras la evaporación (por calentamiento a vacío) del

disolvente y algunos de los reactivos (ácido acético y formaldehído) da lugar a un líquido viscoso como el que se muestra en la Figura 26.



*Figura 26. Imagen de PIL sintetizado a 60 °C mediante la reacción de Radziszewski.*

El PIL sintetizado es soluble en agua, pero se vuelve insoluble en presencia del ion hexafluorofosfato como se ha observado para los líquidos iónicos simples. Tras su caracterización inicial por espectroscopía de infrarrojo, que confirmó la presencia de los grupos funcionales característicos del líquido iónico, el PIL se estudió mediante espectrometría de masas usando MALDI- MS como técnica de ionización. El espectro del PIL conteniendo acetato como contraión se muestra en la Figura 27. La forma del espectro con bandas de intensidad variable que siguen una distribución normal es la que suele obtenerse para materiales poliméricos. Este comportamiento se debe a que el crecimiento de las cadenas por unión de los monómeros no es exactamente el mismo y que por tanto coexisten cadenas de diferente longitud tras realizar la síntesis.



*Figura 27. Espectro MALDI-MS del PIL en forma acetato. Se indica también la longitud (n) de cada una de las cadenas poliméricas identificadas.*

La interpretación del espectro MALDI no es sencilla debido a que el PIL es por naturaleza iónico y puede, por tanto, generar iones con diferente carga. El estudio de la bibliografía indica, en cambio, que cuando se analizan por esta técnica polímeros con grupos derivados de líquidos iónicos, estos generan iones monovalentes en MALDI. Atendiendo a la bibliografía y a los resultados experimentales obtenidos se pueden identificar dos tipos generales de iones, los cuales se muestran en la Figura 28.

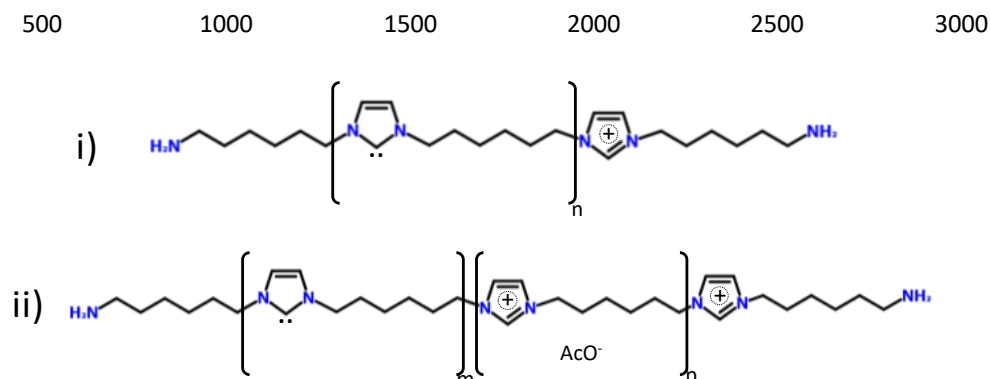


Figura 28. Iones obtenidos a partir del análisis MALDI del PIL en forma acetato.

Como puede observarse en la Figura, los anillos imidazolio pueden encontrarse en tres formas distintas: a) completamente disociados y albergando una carga positiva; b) unidos a su contraión formando un complejo neutro; c) formando un carbeno sin carga debido a la pérdida de un protón en el anillo. A partir de estas estructuras iónicas y del espectro MALDI-MS puede establecerse que la longitud de la cadena polimérica varía entre  $n=4$  y  $n=14$ . Además, los resultados indican un índice de polidispersividad de 1.05 que implica que en el proceso de síntesis se puede controlar bien la longitud de la cadena polimérica.

Una vez sintetizado el PIL, se evaluaron diferentes alternativas para su anclaje en la superficie del papel. Este anclaje puede realizarse mediante el recubrimiento inicial del papel con 3-aminopropiltriétoxissilano, introduciendo así grupos amino en superficie que después pueden participar en la reacción de Radziszewski. Aunque factible, esta aproximación no proporcionó un recubrimiento homogéneo de la superficie del papel y se descartó por la influencia negativa que podría tener sobre la reproducibilidad de la extracción. La segunda estrategia de inmovilización se basó en el conocimiento desarrollado en esta Tesis para la modificación simple de papel con polímeros. En ese sentido, se quiso aprovechar la capacidad que tiene el PVC de ser modificado por ataque nucleófilo. En la bibliografía se ha descrito la modificación del PVC con metil-imidazol (Figura



29a) por lo que se ensayo la modificación del PVC con 1-(3-aminopropil)imidazol (Figura 29b) con objeto de incluir grupos amino en superficie que pudieran participar en la reacción de Radziszewski. Tras su derivatización, el PVC modificado se disolvió en tetrahidrofurano y se soportó sobre el papel de filtro. Si bien la modificación del PVC y su deposición sobre papel se realizó con éxito, al introducir el papel modificado en la disolución de PIL, este no se anclaba de forma eficiente.

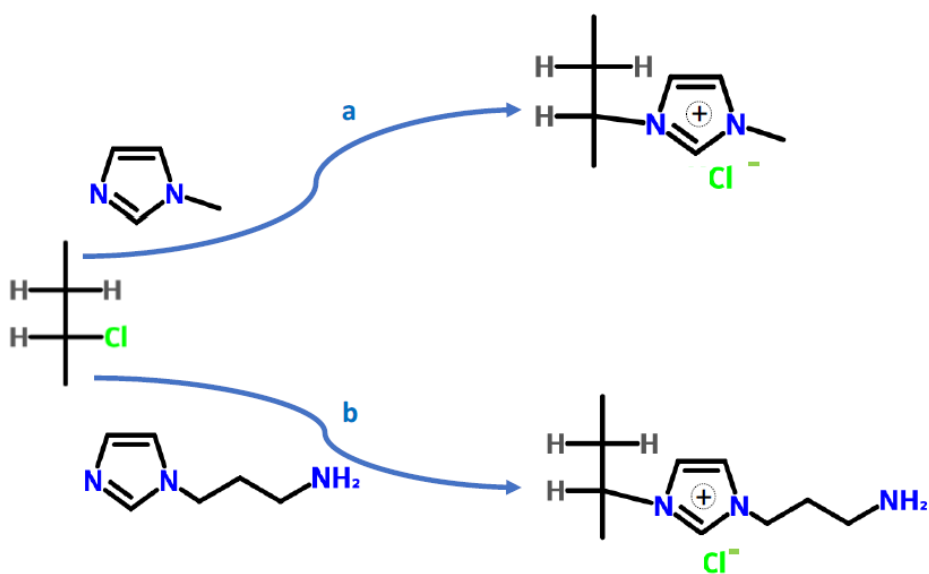
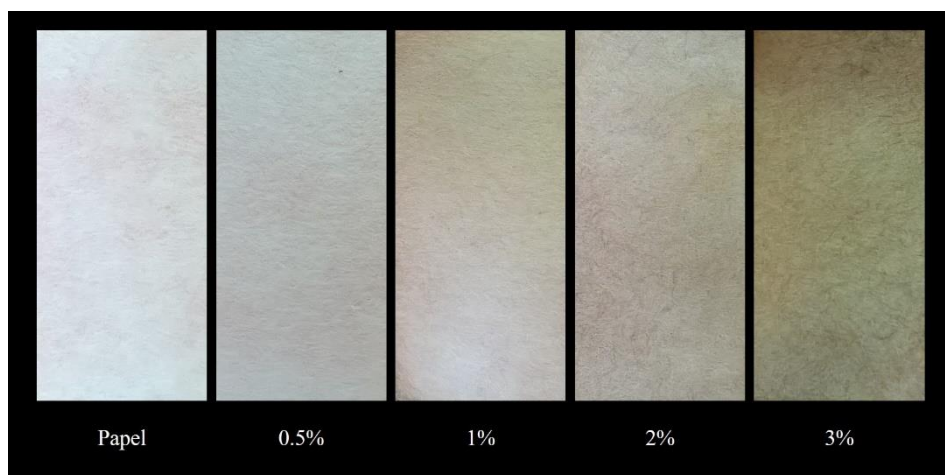


Figura 29. Reacción de PVC con a) *n*-metilimidazol y b) 1-(3-aminopropil)imidazol.

Por último, se ensayó la modificación directa del papel con el PIL a alta temperatura. Para ello, se sumergió un segmento de papel en una disolución de PIL y posteriormente se calentó a alta temperatura (120 °C) durante 30 min. Como puede observarse en la Figura 30, el papel tomo una tonalidad marrón en presencia de PIL que no es observable en el papel puro. Además esa tonalidad

depende de la concentración a la que se encuentra el PIL en la disolución precursora.



*Figura 30. Fotografía de papel puro y papel impregnado con distintas concentraciones de PIL tras su calentamiento a 120 °C durante 30 min.*

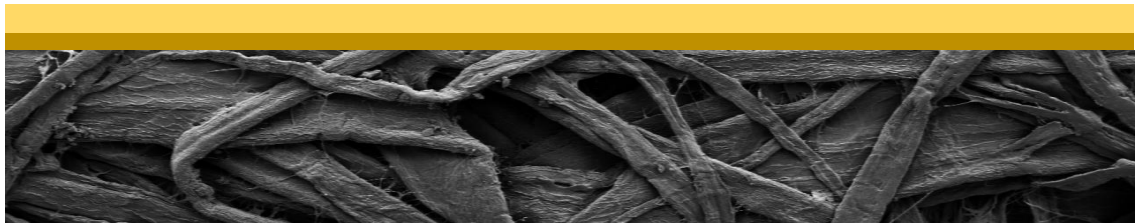
El papel así modificado se lava con acetona y agua hasta que se eliminan todos los restos que no se hayan quedado retenidos. La modificación del papel no puede, en teoría, explicarse como una reacción de adición entre los grupos hidroxilos y los grupos amino del PIL puestos que estas reacciones suelen estar catalizadas. No obstante, es posible que los enlaces glucosídicos de la celulosa se puedan romper por el tratamiento térmico y el carbonilo resultante puede ya reaccionar fácilmente con la amina del PIL para conseguir su anclaje en la superficie.

Las pruebas preliminares de extracción demostraron que existe una relación entre la capacidad extractiva del papel y la concentración del PIL en la disolución precursora lo que indica el papel activo que juega éste en la extracción.

## **Referencias**

- [1] S. Iijima, M. Yudasaka, R. Yamada, S. Bandow, K. Suenaga, F. Kokai, K. Takahashi, Nano-aggregates of single-walled graphitic carbon nano-horns, *Chemical Physics Letters*. 309 (1999) 165–170. doi:10.1016/S0009-2614(99)00642-9.
- [2] E.M. Reyes-Gallardo, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Polymer–nanoparticles composites in bioanalytical sample preparation, *Bioanalysis*. 7 (2015) 1723–1730. doi:10.4155/bio.15.93.
- [3] J. Charles, G.R. Ramkumaar, S. Azhagiri, S. Gunasekaran, FTIR and Thermal Studies on Nylon-66 and 30% Glass Fibre Reinforced Nylon-66, *E-Journal of Chemistry*. 6 (2009) 23–33. doi:10.1155/2009/909017.
- [4] R. Iwamoto, H. Murase, Infrared spectroscopic study of the interactions of nylon-6 with water, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 41 (2003) 1722–1729. doi:10.1002/polb.10526.
- [5] H.C. Choi, Y.M. Jung, S.B. Kim, Size effects in the Raman spectra of TiO<sub>2</sub> nanoparticles, *Vibrational Spectroscopy*. 37 (2005) 33–38. doi:10.1016/j.vibspec.2004.05.006.

# BLOQUE VI



Conclusiones

Conclusions



El tratamiento de muestra es una etapa crucial en la gran mayoría de los procesos analíticos ya que minimiza los efectos negativos de la matriz de la muestra sobre la selectividad analítica, permite la preconcentración de los analitos diana y hace posible la compatibilidad con la técnica instrumental empleada para su determinación. Por otra parte, el desarrollo de metodologías simples, baratas, rápidas, automatizadas y seguras es uno de los objetivos principales de la Química Analítica actual. La presente Tesis Doctoral se ha centrado en el desarrollo de metodologías innovadoras que no sólo tengan en cuenta los aspectos anteriores, sino que también estén en línea con los principios de la Química Verde.

La presente Tesis consta de tres bloques cuyo punto común es el uso del papel como soporte para la síntesis de medios de extracción planos que actúen como una alternativa a las unidades de microextracción convencionales basadas en membranas. En cada uno de los bloques se ha planteado la síntesis, caracterización y evaluación analítica de los diferentes formatos planos propuestos. A continuación, se expondrán las conclusiones más relevantes extraídas del desarrollo experimental realizado a lo largo de la Tesis Doctoral. Con objeto de hacer una presentación más clara, estas conclusiones se dividirán en varias secciones:

#### 1. Conclusiones generales

- ❖ Se ha elegido el papel como soporte para la síntesis de los formatos planos de extracción debido a que, entre otras características, es un recurso natural, renovable y asequible. El papel posee una superficie polar que requiere ser modificada para extraer compuestos de polaridad intermedia o apolares. La versatilidad que proporciona su modificación con diferentes fases sorbentes es otra de sus ventajas.
- ❖ La síntesis propuesta a lo largo de la Memoria, que es común para los diferentes formatos planos de extracción, es muy simple ya que consiste

en la inmersión del papel en una disolución o dispersión del precursor. La evaporación del disolvente permite cubrir de forma homogénea la superficie del papel con la fase sorbente. Además, la síntesis propuesta es novedosa y barata ya que emplea muy poca cantidad de disolventes y asimismo, evita procedimientos largos y complejos de síntesis. Por tanto, está en línea con los principios de la Química Verde.

2. Conclusiones relativas a los formatos planos de extracción integrados en puntas de micropipeta:

- ❖ En esta aproximación, los formatos planos de extracción se colocan en el interior de una punta. Estas unidades de extracción permiten procesar fácilmente volúmenes limitados de muestra, pero pueden incluso adaptarse a grandes volúmenes simplemente cambiando la micropipeta o la propia punta.
- ❖ Como consecuencia de la simplicidad y bajo coste del procedimiento de síntesis propuesto, estas unidades pueden desecharse tras cada extracción lo que elimina el riesgo de contaminación cruzada y protege al operador del contacto directo con las muestras. Por ello, estos dispositivos son muy atractivos en bioanálisis.

3. Conclusiones relativas a los formatos planos de extracción poliméricos

- ❖ La síntesis propuesta de papel recubierto de poliestireno utiliza residuos comerciales de plástico como material para la síntesis de las fases sorbentes permitiendo su reciclado. Este aspecto es una aportación adicional de esta Tesis Doctoral a la Química Verde. El gran potencial de estas fases sorbentes ha quedado demostrado a través de su aplicación para la determinación de metadona en orina.

- ❖ La modificación de papel con líquidos iónicos poliméricos (PILs) se ha realizado siguiendo el mismo procedimiento general, pero minimizando por completo el volumen de disolvente orgánico empleado. La síntesis y deposición del PIL sobre el papel emplea agua como disolvente y requiere de condiciones suaves lo que redunda positivamente en la seguridad del procedimiento.

4. Conclusiones relativas a los formatos planos de extracción basados en nanocomposites:

- ❖ En estos formatos de extracción la fase polimérica empleada puede desempeñar dos funciones bien diferenciadas. Por un lado, permite la estabilización mecánica de las nanopartículas ( $\text{TiO}_2$  o MWCNTs) evitando así su pérdida cuando se pone en contacto con la muestra o disolventes de elución. Además, la fase polimérica puede participar en la extracción del analito objetivo.
- ❖ En material nanométrico puede, a su vez, jugar varios papeles. En ese sentido, la inclusión de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  en la estructura confiere al material compuesto de una alta actividad de fotoblanqueo, tanto en la región UV como en la visible. La introducción de nanopartículas de carbono, proporciona una mayor capacidad de extracción al recubrimiento y mejora su conductividad lo que es esencial para su aplicación en la modalidad de *paper spray*.

5. Conclusiones relativas a los formatos planos de extracción basados en SWCNHs:

- ❖ Se ha estudiado la formación de agregados estables (dalias) en la superficie del papel mediante la simple evaporación del disolvente.
- ❖ Se ha realizado un estudio exhaustivo de las variables que afectan al proceso de extracción del analito para así comprender el potencial de la



fase propuesta. El uso de la unidad de microextracción y la infusión directa a EM permite la detección rápida de tres antidepresivos en muestras de orina con límites de detección del orden de ng/L.

- ❖ El uso de SWNHs como fase de recubrimiento posibilita la potencial extracción de múltiples analitos, especialmente aquellos que poseen anillos aromáticos en su estructura.

*Sample treatment is an important step in many analytical procedures as it minimizes the adverse effects of the sample matrix on the method selectivity, it allows the preconcentration of the analytes of interest, and it makes compatible the sample with the instrumental technique. On the other hand, the development of simple, cheap, fast, automated and secure methodologies is one of the main objectives of modern Analytical Chemistry. This Doctoral Thesis has been focused on the development of innovative methodologies that fulfill the above aspects, being also in line with the principles of Green Chemistry.*

*The present Thesis consists of three blocks that share the use of paper as a support for the synthesis of flat extraction media. These new media are presented as alternatives to the traditional flat microextraction units based on membranes. In each one of the blocks, the synthesis, characterization and analytical evaluation of the different proposed flat formats have been considered. Hereunder, the most relevant conclusions of the Doctoral Thesis will be presented. In order to make a more precise presentation, these conclusions will be divided into several sections:*

*1. General conclusions*

- ❖ Paper has been chosen as a support for the synthesis of flat extraction formats because it is a natural, renewable and affordable resource. The paper has a polar surface that requires modifications if it is intended to be used as extractive phase. This simple modification increases, even more, its versatility of this type of phases.*
- ❖ The synthesis proposed throughout the dissertation which is common for the different flat formats, is very simple since it requires just the immersion of the paper in a precursor solution. The evaporation of the solvent provides a homogeneous coverage of the paper surface with the sorbent phase. Also, the proposed synthesis is novel and cheap because*

*it uses very few solvents and also avoids long and complex synthesis procedures. Therefore, the proposed synthesis is in line with the principles of Green Chemistry.*

2. *Conclusions regarding the flat extraction formats integrated in micropipette tip*

- ❖ *In this approach, the extraction units are placed inside a micropipette tip. These simple extraction units allow to process limited sample volumes easily but can even be adapted to large volumes by changing the micropipette or the tip type.*
- ❖ *As a consequence of the simplicity and low cost of the proposed synthesis procedure, these units can be discarded after each extraction eliminating the cross contamination and protecting the operator from the direct contact with the samples. Therefore, these devices have a high potential in bioanalysis.*

3. *Conclusions regarding the polymeric extraction flat formats*

- ❖ *The proposed synthesis of polystyrene coated paper uses commercial plastic waste as raw material for the synthesis of the sorbent phases, allowing their recycling. This aspect is an additional contribution of this Doctoral Thesis to Green Chemistry. The great potential of these sorbent phases has been demonstrated by their application for the determination of methadone in urine samples.*
- ❖ *The modification of paper with polymeric ionic liquids (PIL) has been carried out following the same general procedure but minimizing the volume of organic solvents completely. The synthesis and deposition of PIL on paper uses water as a solvent and requires mild conditions, which positively affects the safety of the process.*

4. Conclusions concerning flat extraction formats based on nanocomposite materials

- ❖ *In these extraction formats, the polymeric phase can perform two well-differentiated functions. On the one hand, it allows the mechanical stabilization of the nanoparticles ( $\text{TiO}_2$  or MWCNTs) thus, avoiding their loss when the extractant phase is in contact with the sample or the eluting solvents. On the other hand, the polymeric phase can participate in the extraction of the target analytes.*
- ❖ *The nanometric material can play several roles as well. In this sense, the inclusion of  $\text{TiO}_2$  nanoparticles in the structure provides the composite material with a high photobleaching activity, both in the UV and visible regions. The introduction of carbon nanoparticles, provides a higher extraction capacity to the coating and improves its conductivity which is essential for its application in the paper spray modality.*

5. Conclusions regarding flat extraction formats based on SWNHs

- ❖ *The formation of stable aggregates (dahlias) on the paper surface by the simple evaporation of the solvent has been studied.*
- ❖ *An exhaustive study of the variables that affect the extraction of the analyte has been done to understand the potential of the proposed phase. The use of the microextraction unit and the direct infusion to MS allows the rapid detection of three antidepressants in urine samples with detection limits within the ng/L range.*
- ❖ *The use of SWCNHs as a coating phase enables the potential extraction of multiple analytes, especially those that have aromatic rings in their structure.*



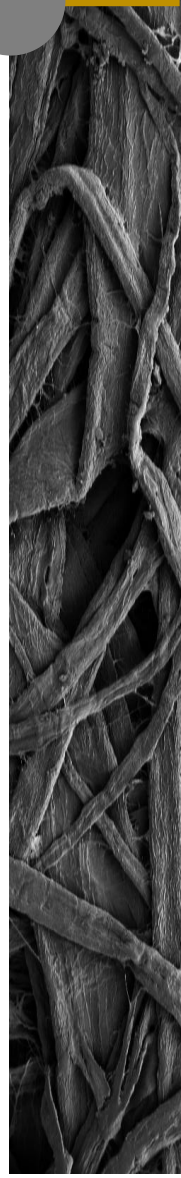
**ANEXOS**





# Anexo 1

## *Publicaciones científicas derivadas de la Tesis Doctoral*







**Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction**

Julia Ríos-Gómez, Rafael Lucena, Soledad Cárdenas

Microchemical Journal 133 (2017) 90-95

**Efficient combined sorption/photobleaching of dyes promoted by cellulose/titania-based nanocomposite films**

Julia Ríos-Gómez, Beatriz Ferrer-Monteagudo, Ángela I. López-Lorente, Rafael Lucena, Rafael Luque, Soledad Cárdenas

Journal of cleaner production 194 (2018) 167-173

**Carbon nanohorn suprastructures on a paper support as a sorptive phase**

Julia Ríos-Gómez, Beatriz Fresco-Cala, María Teresa García-Valverde, Rafael Lucena and Soledad Cárdenas

Molecules 23 (2018) 1252-1262





Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/microc](http://www.elsevier.com/locate/microc)

## Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction



J. Ríos-Gómez, R. Lucena, S. Cárdenas \*

Department of Analytical Chemistry, Institute of Fine Chemistry and Nanochemistry, Marie Curie Building, Campus of Rabanales, University of Córdoba, 14071 Córdoba, Spain

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 20 January 2017

Received in revised form 16 March 2017

Accepted 16 March 2017

Available online 19 March 2017

## Keywords:

Polymer

Paper

Thin film microextraction

Methadone

Urine

Gas chromatography–mass spectrometry

## ABSTRACT

Thin film microextraction (TFME), which is based on the retention of target analytes in a thin polymeric coating, is a powerful sample treatment technique with multiple applications. This article describes an easy and cheap procedure to synthesize polystyrene membranes which can be used as sorptive phases in TFME. The polymeric film is formed by the simple deposition of a thin polymeric layer over a conventional laboratory paper that acts as inert support. The synthesis has been studied and the resulting material has been characterized by infrared spectroscopy and scanning electron microscopy. The thin film has been analytically evaluated using the determination of methadone in urine samples by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) as proof of concept problem. A pipette tip manifold, that allows the confinement of the film while permits the sample and solvents handling, has been designed for the extraction. The developed method provides a good linearity ( $R^2 = 0.9986$ ) and sensitivity (limit of quantification of 10 µg/L), especially if the low sample volume (200 µL) used is considered. The precision (relative standard deviation better than 14%) and relative recovery values (average value of 106% for five independent samples) demonstrated the potential of the approach.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Membranes are widely used in different application fields due to their special properties [1,2]. They present a high superficial area which enhances the mass transference and the extraction kinetics. Moreover, their great variability as well as potential modification with, for example, nanoparticles (NPs) [3,4] make them versatile materials. In addition, the membrane porosity, which plays a key role in the size exclusion separation, can be also ad-hoc modified [5]. Polymeric membranes have been also extensively used in Analytical Chemistry as filters, supports, physical barriers and extraction phases [6].

Polypropylene hollow fibers have been essential for the development of liquid phase microextraction (LPME) techniques where they play a double role [7,8]. On the one hand, they act as physical barriers between phases increasing the selectivity (as large biomolecules cannot be extracted due to size exclusion) and stabilizing the acceptor phase. On the other hand, these membranes can be impregnated with an appropriate organic solvent (supported liquid membranes) which improves even more the extraction selectivity. The mechanical strength and their stability under electric fields have allowed the development of new LPME techniques in the last decade [9]. Despite the potential of hollow membranes, flat membranes have been also proposed for LPME [10,11]. Some of these approaches, like parallel artificial liquid

membrane extraction, have opened a door to LPME automation permitting its application for high sample throughput analysis [12,13].

Polymeric materials have been found extremely useful in solid phase microextraction (SPME) and related techniques due to their extraction capacity, involving different interaction chemistries, and their thermal stability [14,15]. Although they are usually presented in the form of coatings of defined thickness, polymeric membranes and thin films have attracted much attention in the last years as competitive phases [16,17]. Indeed hollow fibers, naked, [18] chemically modified [19] or decorated with nanoparticles (NPs) [20,21] can substitute conventional SPME fibers. Moreover, flat membranes or films have given rise to new SPME techniques with great potential [22–25].

Commercially available membranes cover a wide range of chemistries that can be exploited in this context but lab-made membranes are under continuous evolution since they provide a higher versatility allowing the proper selection of the membrane (composition, format) for a defined analytical problem. The reported methods for the lab-made membranes can be divided in two main groups depending on the role that the membrane, itself, plays: active sorptive phase or support. Within the first group, electrospinning is the most remarkable one [26] as it can provide in a simple way polymeric films consisting of naked fibers in the micro to nanometric range [27] with special orientation, random or aligned. Special dopants (e.g. NPs) [28–30] can be also included in the polymeric network to improve their properties. Although spin coating procedure can be in theory used for the same purpose, it has been practically applied in a lesser extent to fabricate, for

\* Corresponding author.

E-mail address: [qa1caarm@uco.es](mailto:qa1caarm@uco.es) (S. Cárdenas).

- [4] A. Aghigh, V. Alizadeh, H.Y. Wong, M.S. Islam, N. Amiz, M. Zaman, Recent advances in utilization of graphene for filtration and desalination of water: a review, *Desalination* 365 (2015) 389–397.
- [5] Y. Gu, U. Wiesner, Tailoring pore size of graded mesoporous block copolymer membranes: moving from ultrafiltration toward nanofiltration, *Macromolecules* 48 (2015) 6153–6159.
- [6] E. Carasek, J. Merib, Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: a review, *Anal. Chim. Acta* 880 (2015) 8–25.
- [7] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, Liquid–liquid–liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650–2656.
- [8] A. Gjelstad, S. Pedersen-Bjergaard, Perspective: hollow fibre liquid-phase microextraction – principles, performance, applicability, and future directions, *Sci. Chromatogr.* 5 (2013) 181–189.
- [9] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, Electrokinetic migration across artificial liquid membranes. New concept for rapid sample preparation of biological fluids, *J. Chromatogr. A* 1109 (2006) 183–190.
- [10] M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Stir membrane liquid–liquid microextraction, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 869–874.
- [11] M. Roldán-Piñán, M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Stir-membrane liquid microextraction for the determination of paracetamol in human saliva samples, *Bioanalysis* 5 (2013) 307–315.
- [12] A. Gjelstad, K.E. Rasmussen, M.P. Parmer, S. Pedersen-Bjergaard, Parallel artificial liquid membrane extraction: micro-scale liquid–liquid–liquid extraction in the 96-well format, *Bioanalysis* 5 (2013) 1377–1385.
- [13] M. Roldán-Piñán, S. Pedersen-Bjergaard, A. Gjelstad, Parallel artificial liquid membrane extraction of acidic drugs from human plasma, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 2811–2819.
- [14] R.P. Belardi, J. Pawliszyn, The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns, *Water Pollut. Res. J. Can.* 24 (1989) 179–191.
- [15] C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers, *Anal. Chem.* 62 (1990) 2145–2148.
- [16] I. Bruheim, X. Liu, J. Pawliszyn, Thin-film microextraction, *Anal. Chem.* 75 (2003) 1002–1010.
- [17] J.J. Grandy, E. Boyaci, J. Pawliszyn, Development of a carbon mesh supported thin film microextraction membrane as a means to lower the detection limits of bench-top and portable GC/MS instrumentation, *Anal. Chem.* 88 (2016) 1760–1767.
- [18] M.A. Farajzadeh, A.A. Matin, Determination of BTEX in water samples with an SPME hollow fiber coated copper wire, *Chromatographia* 68 (2008) 443–446.
- [19] M.A. Golesefidi, Z. Es'haghi, A. Sarafraz-Yazdi, Design, synthesis and evaluation of a molecularly imprinted polymer for hollow fiber–solid phase microextraction of chlorogenic acid in medicinal plants, *J. Chromatogr. A* 1229 (2012) 24–29.
- [20] Z. Es'haghi, M. Ebrahimi, M.-S. Hosseini, Optimization of a novel method for determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in hair and waste water samples by carbon nanotubes reinforced sol-gel based hollow fiber solid phase microextraction and gas chromatography using factorial experimental design, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 3400–3406.
- [21] Y. Yang, J. Chen, Y.-P. Shi, Determination of diethylstilbestrol in milk using carbon nanotube-reinforced hollow fiber solid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography, *Talanta* 97 (2012) 222–228.
- [22] R. Jiang, J. Pawliszyn, Thin-film microextraction offers another geometry for solid-phase microextraction, *Trends Anal. Chem.* 39 (2012) 245–253.
- [23] E. Boyaci, C. Sparham, J. Pawliszyn, Thin-film microextraction coupled to LC-ESI-MS/MS for determination of quaternary ammonium compounds in water samples, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 409–420.
- [24] M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Stir membrane extraction: a useful approach for liquid sample pretreatment, *Anal. Chem.* 81 (2009) 8957–8961.
- [25] P. Richter, C. Leiva, C. Choque, A. Giordano, B. Sepúlveda, Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 8598–8602.
- [26] H. Bagheri, O. Rezvani, S. Banihashemi, Core-shell electrospun polybutylene terephthalate/polypyrrole hollow nanofibers for micro-solid phase extraction, *J. Chromatogr. A* 1434 (2016) 19–28.
- [27] Q. Xu, S.-Y. Wu, M. Wang, X.-Y. Yin, Z.-Y. Wen, W.-N. Ge, Z.-Z. Gu, Electrospun nylon6 nanofibrous membrane as SPE adsorbent for the enrichment and determination of three estrogens in environmental water samples, *Chromatographia* 71 (2010) 487–492.
- [28] K. Yoshimatsu, L. Ye, J. Lindberg, I.S. Chronakis, Selective molecular adsorption using electrospun nanofiber affinity membranes, *Biosens. Bioelectron.* 23 (2008) 1208–1215.
- [29] X.M. He, G.T. Zhu, J. Yin, Q. Zhao, B.F. Yuan, Y.Q. Feng, Electrospun polystyrene/oxidized carbon nanotubes film as both sorbent for thin film microextraction and matrix for matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1351 (2014) 29–36.
- [30] J. Huang, H. Deng, D. Song, H. Xu, Electrospun polystyrene/graphene nanofiber film as a novel adsorbent of thin film microextraction for extraction of aldehydes in human exhaled breath condensates, *Anal. Chim. Acta* 878 (2015) 102–108.
- [31] F.R. Kermani, J. Pawliszyn, Sorbent coated glass wool fabric as a thin film microextraction device, *Anal. Chem.* 84 (2012) 8990–8995.
- [32] A. Kabir, K. G. Furton, Fabric phase sorptive extractor (FPSE), U.S. Patent and Trademark Office, US20140274660 A1, 2014.
- [33] S.L. Chong, D. Wang, J.D. Hayes, B.W. Wilhite, A. Malik, Sol–gel coating technology for the preparation of solid-phase microextraction fibers of enhanced thermal stability, *Anal. Chem.* 69 (1997) 3889–3898.
- [34] M. Roldán-Piñán, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, A. Kabir, K. Furton, Stir fabric phase sorptive extraction for the determination of triazine herbicides in environmental waters by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1376 (2015) 35–45.
- [35] E. Karageorgou, N. Manousi, V. Samanidou, K. Furton, A. Kabir, Fabric phase sorptive extraction for the fast isolation of sulfonamides residues from raw milk followed by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *Food Chem.* 196 (2016) 428–436.
- [36] M. Saraji, B. Farajmand, Chemically modified cellulose paper as a thin film microextraction phase, *J. Chromatogr. A* 1314 (2013) 24–30.
- [37] C. Ye, Y. Wu, Z. Wang, Modification of cellulose paper with polydopamine as a thin film microextraction phase for detection of nitrophenols in oil samples, *RSC Adv.* 6 (2016) 9066–9071.
- [38] S.M. Pawde, A.R. Deshmukh, K. Kalim, Studies on surface properties of polymeric coated paper material, *J. Appl. Polym. Sci.* 101 (2006) 4167–4171.
- [39] H. Wang, J. Liu, R. Graham Cooks, Z. Ouyang, Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 49 (2010) 877–880.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Cleaner Production

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jclepro](http://www.elsevier.com/locate/jclepro)

## Efficient combined sorption/photobleaching of dyes promoted by cellulose/titania-based nanocomposite films

Julia Ríos-Gómez<sup>a</sup>, Beatriz Ferrer-Monteagudo<sup>a</sup>, Ángela I. López-Lorente<sup>a</sup>,  
Rafael Lucena<sup>a</sup>, Rafael Luque<sup>b, c, \*</sup>, Soledad Cárdenas<sup>a, \*\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQIN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain

<sup>b</sup> Departamento de Química Orgánica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQIN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain

<sup>c</sup> Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), 6 Miklukho-Maklaya str., 117198, Moscow, Russia

### ARTICLE INFO

Article history:  
Available online 14 May 2018

Keywords:  
Photocatalysis  
Modified paper  
Polyamide  
Titanium dioxide nanoparticles  
Composite

### ABSTRACT

Photocatalysts are usually confined in a substrate to prevent their dispersion and facilitate their subsequent removal from the environmental compartment after remediation, thus, resulting in portable and “green” photocatalytic platforms. If the substrate is well designed, it can retain target pollutants close to the photocatalyst particles increasing photocatalytic efficiency. This study discloses a simple modification of conventional paper, a green and sustainable support, with a polyamide-titanium dioxide nanoparticles composite and its evaluation in photocatalysis. The material offers a high sorption capacity (2.1 µg/cm<sup>2</sup>) towards the selected model pollutant, methyl orange, allowing its isolation from a contaminated media. Additionally, a remarkable photocatalytic degradation both under UV and visible light (sunlight) was observed at short times of irradiation (typically 20–40 min). According to the results, the cellulosic substrate seems to play a crucial role in the process.

© 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

The pollution of natural resources due to intensive industrial activity is a worldwide issue of concern. Large amounts of dyes are produced each year for many applications, e.g. textile, paper, food industries, among others. The removal of these contaminants has been the focus of intensive research in recent decades, covering a wide range of concentrations and chemical forms. Retention of the pollutants on sorbent materials is one of the most employed approaches (Chen et al., 2015; Stefelová et al., 2017) while photocatalysis is a greener alternative which attracted significant interest in recent years (Pelaez et al., 2012; Ibadon and Fitzpatrick, 2013; Shan et al., 2010; Gaya and Abdullah, 2008; Peral et al., 1997; Fox and Dulay, 1993).

Heterogeneous photocatalysis exploits the ability of certain semiconductors to absorb radiation in the UV–vis/visible region to promote electrons from the gap to the conduction band. Because of this promotion, an electron/hole pair with redox activity is formed, suitable for environmental remediation and selective catalytic oxidations (Colmenares and Luque, 2014; Colmenares et al., 2016). Different nanomaterials have been exploited as nanophotocatalysts in UV-driven catalytic degradation of pollutant dyes (e.g. malachite green, sunset yellow, Victoria blue, methyl violet, etc.), which include semiconductor quantum dots (e.g. ZnS (Rajabi et al., 2013; Rajabi et al., 2018; Shamsipur and Rajabi, 2014)) -also doped with different metals- and iron oxide magnetic nanoparticles (Rajabi et al., 2015, 2016), among others.

Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>)-mediated photocatalysis is widely employed in several applications due to the inherent advantages of titania that include low toxicity, chemical and biological stability and low cost (Thomas et al., 2017). These include self-cleaning, wastewater treatment and environmental remediation applications. Photoactivity of TiO<sub>2</sub> depends on its anatase form showing superior electron-hole pair mobility associated to a high photocatalytic activity, albeit limited mainly to UV range unless

\* Corresponding author. Departamento de Química Orgánica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQIN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain.

\*\* Corresponding author.  
E-mail addresses: [q62alsor@uco.es](mailto:q62alsor@uco.es) (R. Luque), [scardenas@uco.es](mailto:scardenas@uco.es) (S. Cárdenas).

- photocatalytic degradation of VOC. *Catal. Today* 287, 22–29.
- Ji, L., Zhang, Y., Miao, S., Gong, M., Liu, X., 2017. *In situ* synthesis of carbon doped TiO<sub>2</sub> nanotubes with an enhanced photocatalytic performance under UV and visible light. *Carbon* 125, 544–550.
- Jiao, Y., Wan, C., Li, J., 2017. Anatase TiO<sub>2</sub>/cellulose hybrid paper: synthesis, characterization, and photocatalytic activity for degradation of indigo carmine dye. *Funct. Mater. Lett.* 10, 1750018.
- Kushwaha, H.S., Parmesh, G., Vaish, R., Varma, K.B.R., 2015. TiO<sub>2</sub> microcrystallized glass plate mediated photocatalytic degradation of estrogenic pollutant in water. *J. Non-Crystal. Solids* 408, 13–17.
- Manassero, A., Satuf, M.L., Alfano, O.M., 2017. Photocatalytic degradation of an emerging pollutant by TiO<sub>2</sub>-coated glass rings: a kinetic study. *Sci. Pollut. Res. Environ.* 24, 6031–6039.
- Mehmandoust, S.G., Alizadeh, R., Babaluo, A.A., 2014. Kinetic study of the poly(vinyl chloride)/titanium dioxide nanocomposites photodegradation under accelerated ultraviolet and visible light exposure. *Polym. Adv. Technol.* 25, 799–808.
- Mohamed, M.A., Salleh, W.N.W., Jaafar, J., Ismail, A.F., Abd Mutalib, M., Jamil, S.M., 2015. Incorporation of N-doped TiO<sub>2</sub> nanorods in regenerated cellulose thin films fabricated from recycled newspaper as a green portable photocatalyst. *Carbohydr. Polym.* 133, 429–437.
- Ouyang, W., Kuna, E., Yezpe, A., Balu, A.M., Romero, A.A., Colmenares, J.C., Luque, R., 2016. Mechanochemical synthesis of TiO<sub>2</sub> nanocomposites as photocatalysts for benzyl alcohol photo-oxidation. *Nanomaterials* 6, 93–99.
- Pelaez, M., Nolan, N.T., Pillai, S.C., Seery, M.L., Falaras, P., Kontos, A.G., Dunlop, P.S.M., Hamilton, J.W.J., Byrne, J.A., O'Shea, K., Enterazi, M.H., Dionysiou, D.D., 2012. A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications. *Appl. Catal. B* 125, 331–349.
- Peral, J., Domenech, X., Ollis, D.F., 1997. Heterogeneous photocatalysis for purification, decontamination and deodorization of air. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 70, 117–140.
- Pronina, N., Klauson, D., Moiseev, A., Deubener, J., Krichevskaya, M., 2015. Titanium dioxide sol-gel-coated expanded clay granules for use in photocatalytic fluidized-bed reactor. *Appl. Catal. B: Environ.* 178, 117–123.
- Rajabi, H.R., Khani, O., Shamsipur, M., Vatanpour, V., 2013. High-performance pure and Fe<sup>3+</sup>-ion doped ZnS quantum dots as green nanophotocatalysts for the removal of malachite green under UV-light irradiation. *J. Hazard. Mat.* 250–251, 370–378.
- Rajabi, H.R., Arjmand, H., Hoseini, S.J., Nasrabadi, H., 2015. Surface modified magnetic nanoparticles as efficient and green sorbents: synthesis, characterization, and application for the removal of anionic dye. *J. Magnet. Magn. Mat.* 394, 7–13.
- Rajabi, H.R., Arjmand, H., Kazamdehdashti, H., Farsi, M., 2016. A comparison investigation on photocatalytic activity performance and adsorption efficiency for the removal of cationic dye: quantum dots vs. magnetic nanoparticles. *J. Environ. Chem. Eng.* 4, 2830–2840.
- Rajabi, H.R., Karimi, F., Kazemdehdashti, H., Kavoshi, L., 2018. Fast sonochemically-assisted synthesis of pure and doped zinc sulfide quantum dots and their applicability in organic dye removal from aqueous media. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 181, 98–105.
- Réti, B., Major, Z., Szarka, D., Boldizsár, T., Horváth, E., Magrez, A., Forró, L., Dombi, A., Hernádi, K., 2016. Influence of TiO<sub>2</sub> phase composition on the photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub>/MWCNT composites prepared by combined sol-gel/hydrothermal method. *J. Mol. Catal. A: Chem.* 414, 140–147.
- Reyes-Gallardo, E.M., Lucena, R., Cárdenas, S., Valcarcel, M., 2014. Magnetic nanoparticles-nylon 6 composite for the dispersive microsolid phase extraction of selected polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples. *J. Chromatogr. A* 1345, 43–49.
- Reyes-Gallardo, E.M., Lucena, R., Cárdenas, S., 2017. Silica nanoparticles-nylon 6 composites: synthesis, characterization and potential use as sorbent. *RSC Adv.* 7, 2308–2314.
- Ríos-Gómez, J., Lucena, R., Cárdenas, S., 2017. Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction. *Microchem. J.* 133, 90–95.
- Sampaio, M.J., Silva, C.G., Silva, A.M.T., Pastrana-Martínez, L.M., Han, C., Morales-Torres, S., Figueiredo, J.L., Dionysiou, D.D., Faria, J.L., 2015. Carbon-based TiO<sub>2</sub> materials for the degradation of Microcystin-LA. *Appl. Catal. B: Environ.* 170–171, 74–82.
- Saraji, M., Farajmand, B., 2013. Chemically modified cellulose paper as a thin film microextraction phase. *J. Chromatogr. A* 1314, 24–30.
- Seftel, E.M., Niarchos, M., Mitropoulos, C., Mertens, M., Vansant, E.F., Cool, P., 2015. Photocatalytic removal of phenol and methylene-blue in aqueous media using TiO<sub>2</sub>@LDH clay nanocomposites. *Catal. Today* 252, 120–127.
- Shamsipur, M., Rajabi, H.R., 2014. Study of photocatalytic activity of ZnS quantum dots as efficient nanoparticles for removal of methyl violet: Effect of ferric ion doping. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 122, 260–267.
- Shan, A.Y., Ghazi, T.I.M., Rashid, S.A., 2010. Immobilisation of titanium dioxide onto supporting materials in heterogeneous photocatalysis: a review. *Appl. Catal. A* 389, 1–8.
- Srikanth, B., Goutham, R., Badri Narayan, R., Ramprasad, A., Gopinath, K.P., Sankaranarayanan, A.R., 2017. Recent advancements in supporting materials for immobilised photocatalytic applications in waste water treatment. *J. Environ. Manage.* 200, 60–78.
- Stefelová, J., Slovák, V., Siqueira, G., Olsson, R.T., Tingaut, P., Zimmermann, T., Sehaqui, H., 2017. Drying and pyrolysis of cellulose nanofibers from wood, bacteria, and algae for char application in oil absorption and dye adsorption. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 5 (3), 2679–2692.
- Sun, J.H., Dong, S.Y., Wang, Y.K., Sun, S.P., 2009. Preparation and photocatalytic property of a novel dumbbell-shaped ZnO microcrystal photocatalyst. *J. Hazard. Mater.* 172, 1520–1526.
- Thomas, M., Natarajan, T.S., Sheikh, M.U.D., Bano, M., Khan, F., 2017. Self-organized graphene oxide and TiO<sub>2</sub> nanoparticles incorporated alginate/carboxymethyl cellulose nanocomposites with efficient photocatalytic activity under direct sunlight. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 346, 113–125.

## Article

# Carbon Nanohorn Suprastructures on a Paper Support as a Sorptive Phase

Julia Ríos-Gómez, Beatriz Fresco-Cala, María Teresa García-Valverde, Rafael Lucena \*  and Soledad Cárdenas

Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica IUIQFN, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (anexo), E-14071 Córdoba, Spain; juliariosgomez@hotmail.com (J.R.-G.); q72frcab@uco.es (B.F.-C.); q72gavam@uco.es (M.T.G.-V.); scardenas@uco.es (S.C.)

\* Correspondence: rafael.lucena@uco.es; Tel.: +34-957-211-066

Academic Editor: Victoria F. Samanidou

Received: 3 May 2018; Accepted: 22 May 2018; Published: 24 May 2018



**Abstract:** This article describes a method for the modification of paper with single-wall carbon nanohorns (SWCNHs) to form stable suprastructures. The SWCNHs form stable dahlia-like aggregates in solution that are then self-assembled into superior structures if the solvent is evaporated. Dipping paper sections into a dispersion of SWCNHs leads to the formation of a thin film that can be used for microextraction purposes. The coated paper can be easily handled with a simple pipette tip, paving the way for disposable extraction units. As a proof of concept, the extraction of antidepressants from urine and their determination by direct infusion mass spectrometry is studied. Limits of detection (LODs) were 10 ng/L for desipramine, amitriptyline, and mianserin, while the precision, expressed as a relative standard deviation, was 7.2%, 7.3%, and 9.8%, respectively.

**Keywords:** carbon nanohorns; sorptive phase; paper; microextraction; antidepressants

## 1. Introduction

Solid-phase microextraction (SPME) is a consolidated sample treatment technique that combines isolation, preconcentration, and sample introduction into one step [1]. This miniaturized technique, which can easily be automated, is based on the distribution of the analytes between the sample and the fiber coating. In this context, the reversible chemical interactions between the analyte and the sorptive phase are of paramount importance to define the efficiency and selectivity of the microextraction. SPME is in a continuous development following several evident tendencies like the development of new coatings [2,3] or the direct coupling with instrumental techniques like mass-spectrometry (MS) [4,5]. All these trends make SPME the predominant technology for microextraction.

The adaptation of the SPME principles to a specific field such as environmental analysis drove the development of thin film microextraction (TFME) [6]. Although both techniques share the same foundations, they differ in their application. TFME uses a thin sheet of a polymeric phase as a sorptive phase that may adopt several shapes [7] like a flat membrane [8] or a coated blade [9]. These formats present a higher extraction capacity compared to traditional fibers due to an increased surface to volume ratio, which has positive connotations for the thermodynamic and kinetics. Also, TFME can be automated to allow the simultaneous extraction of several samples, thus increasing the sample throughput [10]. In the typical procedure, the thin film is immersed in the sample, which is stirred to favor the analyte transference to the sorptive phase [11]. However, the thin film can also be stirred into the sample. The use of planar sorptive phases integrated into stirring units has allowed for



35. Fresco-Cala, B.; Mompó-Roselló, Ó.; Simó-Alfonso, E.F.; Cárdenas, S.; Herrero-Martínez, J.M. Carbon nanotube-modified monolithic polymethacrylate pipette tips for (micro) solid-phase extraction of antidepressants from urine samples. *Microchim. Acta* **2018**, *185*, 127. [CrossRef] [PubMed]
36. Jagtap, P.K.; Tapadia, K. Pharmacokinetic determination and analysis of nortriptyline based on GC–MS coupled with hollow-fiber drop-to-drop solvent microextraction technique. *Bioanalysis* **2018**, *10*, 143–152. [CrossRef] [PubMed]
37. De Boeck, M.; Dubrulle, L.; Dehaen, W.; Tytgat, J.; Cuypers, E. Fast and easy extraction of antidepressants from whole blood using ionic liquids as extraction solvent. *Talanta* **2018**, *180*, 292–299. [CrossRef] [PubMed]
38. Chen, D.; Hu, Y.-N.; Hussain, D.; Zhu, G.-T.; Huang, Y.-Q.; Feng, Y.-Q. Electrospun fibrous thin film microextraction coupled with desorption corona beam ionization-mass spectrometry for rapid analysis of antidepressants in human plasma. *Talanta* **2016**, *152*, 188–195. [CrossRef] [PubMed]
39. Rajabi, A.A.; Yamini, Y.; Faraji, M.; Seidi, S. Solid-phase microextraction based on cetyltrimethylammonium bromide-coated magnetic nanoparticles for determination of antidepressants from biological fluids. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 1570–1577. [CrossRef]
40. Bagheri, H.; Banihashemi, S.; Zandian, F.K. Microextraction of antidepressant drugs into syringes packed with a nanocomposite consisting of polydopamine, silver nanoparticles and polypyrrole. *Microchim. Acta* **2016**, *183*, 195–202. [CrossRef]
41. Guan, H.; Brewer, W.E.; Garriss, S.T.; Morgan, S.L. Disposable pipette extraction for the analysis of pesticides in fruit and vegetables using gas chromatography/mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 1867–1874. [CrossRef] [PubMed]
42. Brewer, W.E. Disposable pipette extraction. U.S. Patent US6566145B2, 20 May 2003.
43. Brewer, W.E. Dispersive pipette extraction tip and methods for use. U.S. Patent US9733169B2, 15 August 2017.

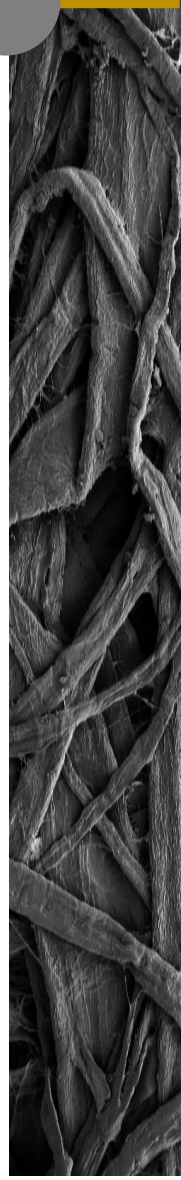
**Sample Availability:** Samples of the membranes are available from the authors.



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Anexo 2

### *Publicaciones científicas relacionadas con la Tesis Doctoral*





## **Capítulo de enciclopedia**

### **Selective nanoparticles in microextraction**

Julia Ríos-Gómez, Guillermo Lasarte-Aragonés, Soledad Cárdenas y Rafael Lucena

*Encyclopedia of Analytical Chemistry* Ed. John Wiley & Sons, 2016. doi:  
10.1002/9780470027318.a9529



# Selective Nanoparticles in Microextraction

Julia Ríos-Gómez, Guillermo Lasarte-Aragonés,  
Soledad Cárdenas, and Rafael Lucena

University of Córdoba, Córdoba, Spain

<b>1 Introduction</b>	<b>1</b>
1.1 Extraction Selectivity	1
1.2 Scope of the Article	2
<b>2 Synthetic Polymers as Selectivity Enhancers</b>	<b>2</b>
2.1 Molecularly Imprinted Polymers-based Extraction Procedures	3
2.2 Restricted Access Material-based Extraction Procedures	5
<b>3 Natural Polymers as Selectivity Enhancers</b>	<b>5</b>
3.1 Antibodies	5
3.2 Aptamers	8
<b>4 Concluding Remarks</b>	<b>9</b>
<b>Acknowledgments</b>	<b>10</b>
<b>Abbreviations and Acronyms</b>	<b>10</b>
<b>Related Articles</b>	<b>10</b>
<b>References</b>	<b>10</b>

Sorption capacity is a critical issue in microextraction techniques where the amount of sorbent is reduced to the low milligram range and even lower. In this context, the use of sorbents with a high superficial area is really desirable. Nanoparticles (NPs) fulfill this main requirement while, at the same time, provide the analyst with a wide variety of interaction chemistries that can be easily selected depending on the analytical problem under study. In addition, certain NPs present especial properties (e.g. superparamagnetism) that make them so attractive in the microextraction context. Focusing on sorption capacity is meaningless when complex samples, the usual situation in Bioanalysis, are processed as matrix components may overload the sorbent avoiding the extraction of the target analytes. In this scenario, selectivity then becomes a critical variable of concern. This article discusses the role of selectivity in microextraction and provides a general overview of the main coatings used to boost the selectivity of NPs. In particular, this article describes the use of two groups of coatings as selectivity enhancers. On the one hand, the use of synthetic polymers including molecularly imprinted polymers (MIPs) and restricted access materials (RAMs) is

a well-established alternative in analytical sciences. On the other hand, biopolymers, such as antibodies and aptamers, exploit biorecognition that is by far the most selective interaction. Both alternatives are described in detail in this article.

## 1 INTRODUCTION

The complex nature of some samples, especially the biological ones, makes their analysis a real challenge. An efficient treatment, that tries to make that sample compatible with the final instrumental technique, is often required.<sup>(1)</sup> Sample treatment has evolved dramatically in the past decades giving rise to new techniques characterized by their greater simplicity. Among them, microextraction techniques that make use of lower amount/volume of extractant phases than classical ones can be highlighted.<sup>(2)</sup> These techniques are usually classified according to the aggregation state of the extractant phase in two groups, namely, microsolid-phase extraction ( $\mu$ SPE) and liquid-phase microextraction (LPME).

In the microsolid-phase microextraction context, a critical question arises when we ponder how the extraction capacity can be maintained if lower amounts of sorbents are used. NPs play a relevant role in the answer to that question. Theoretically, NPs can be defined as those particles with one or more dimensions in the nanometer range, taking 100 nm as an arbitrary limit.<sup>(3)</sup> and having novel characteristics compared to those observed at the macroscale.<sup>(4)</sup> Among other properties, the nanometric size confers them with a high surface to volume ratio enhancing the extraction capacity. In other words, NPs present higher capacity (amount of analyte adsorbed per gram of solid) compared to classical micrometric particles. Thanks to that, NPs have been extensively used as sorbent in many extraction procedures.<sup>(5)</sup>

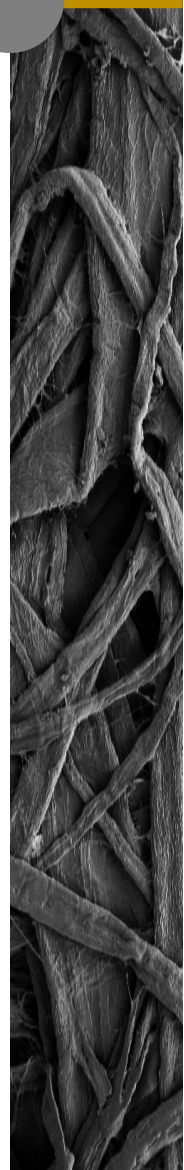
### 1.1 Extraction Selectivity

Conventionally, sorbent capacity has taken precedence over selectivity and other characteristics in the development of new sorptive phases. This trend relies on a simple idea: the higher the capacity, the higher the sensitivity. In addition, further application of a chromatographic separation improves the selectivity immediately before the instrumental analysis. Although this idea is applicable in many analytical problems, it is compromised when complex samples are processed owing to several reasons. On the one hand, matrix binding to the sorbent hinders the extraction capacity limiting the analytes-sorbent interaction. On the other hand, the final extracts will contain, also preconcentrated, a large number of matrix components making necessary a

53. B. Madru, F. Chapuis-Hugon, V. Pichon, 'Novel Extraction Supports Based on Immobilised Aptamers: Evaluation for the Selective Extraction of Cocaine', *Talanta*, **85**, 616–624 (2011).
54. A. Cingöz, F. Hugon-Chapuis, V. Pichon, 'Evaluation of Various Immobilized Enzymatic Microreactors Coupled On-Line With Liquid Chromatography and Mass Spectrometry Detection for Quantitative Analysis of Cytochrome c', *J. Chromatogr. A*, **1209**, 95–103 (2008).
55. K. Turney, T.J. Drake, J.E. Smith, W. Tan, W.W. Harrison, 'Functionalized Nanoparticles for Liquid Atmospheric Pressure Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Peptide Analysis', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 2367–2374 (2004).
56. G.D. Huy, N. Jin, B.C. Yin, B.C. Ye, 'A Novel Separation and Enrichment Method of 17 $\beta$ -Estradiol Using Aptamer-Anchored Microbeads', *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, **34**, 189–195 (2011).
57. S. Song, L. Wang, J. Li, C. Fan, J. Zhao, 'Aptamer-Based Biosensors', *Trend. Anal. Chem.*, **27**, 108–117 (2008).
58. X.R. Liu, Y. Li, J.B. Zheng, J.C. Zhang, Q.L. Sheng, 'Carbon Nanotube-Enhanced Electrochemical Aptasensor for the Detection of Thrombin', *Talanta*, **81**, 1619–1624 (2010).
59. Z.X. Zhang, W. Yang, J. Wang, C. Yang, F. Yang, X.R. Yang, 'A Sensitive Impedimetric Thrombin Aptasensor Based on Polyamidoamine Dendrimer', *Talanta*, **78**, 1240–1245 (2009).
60. L.-D. Li, Z.-B. Chen, H.-T. Zhao, L. Guo, X. Mu, 'An Aptamer-Based Biosensor for the Detection of Lysozyme With Gold Nanoparticles Amplification', *Sens. Actuators, B*, **149**, 110–115 (2010).
61. H. Zhang, B. Jiang, Y. Xiang, Y. Zhang, Y. Chai, R. Yuan, 'Aptamer/Quantum Dot-Based Simultaneous Electrochemical Detection of Multiple Small Molecules', *Anal. Chim. Acta*, **688**, 99–103 (2011).
62. G.D. Liu, X. Mao, J.A. Phillips, H. Xu, W.H. Tan, L.W. Zeng, 'Aptamer–Nanoparticle Strip Biosensor for Sensitive Detection of Cancer Cells', *Anal. Chem.*, **81**, 10013–10018 (2009).
63. T. Li, E. Wang, S. Dong, 'Lead(II)-Induced Allosteric G-Quadruplex DNAzyme as a Colorimetric and Chemiluminescence Sensor for Highly Sensitive and Selective Pb<sup>2+</sup> Detection', *Anal. Chem.*, **82**, 1515–1520 (2010).
64. B. Book, J. Chen, J. Irudayaraj, 'Quantification of Receptor Targeting Aptamer Binding Characteristics Using Single-Molecule Spectroscopy', *J. Biotechnol. Bioeng.*, **108**, 1222–1227 (2011).
65. Y.S. Kim, J.H. Kim, I.A. Kim, S.J. Lee, J. Jurng, M.B. Gu, 'A Novel Colorimetric Aptasensor Using Gold Nanoparticle for a Highly Sensitive and Specific Detection of Oxytetracycline', *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 1644–1649 (2010).
66. J.H. Soh, Y. Lin, S. Rana, J.Y. Ying, M.M. Stevens, 'Colorimetric Detection of Small Molecules in Complex Matrixes Via Target-Mediated Growth of Aptamer-Functionalized Gold Nanoparticles', *Anal. Chem.*, **87**, 7644–7652 (2015).
67. J.B. Quintana, M. Ramil, R. Rodil, I. Rodríguez, R. Cela, 'New Sample Preparation Strategies for Analytical Determinations', in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2014. DOI: 10.1002/9780470027318.a9392
68. M. Cruz-Vera, 'Dispersive Liquid-Liquid Microextraction', in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2010. DOI: 10.1002/9780470027318.a9172
69. A. Gómez-Hens, M.P. Aguilar-Caballeros, 'Trends in Immunoassay Techniques', in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2010. DOI: 10.1002/9780470027318.a9180
70. S.C.B. Gopinath, 'Aptamers', in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2011. DOI: 10.1002/9780470027318.a1402.pub2
71. G. Lasarte-Aragónés, R. Lucena, S. Cárdenas, 'Aptamers in Analytical Chemistry', in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2012. DOI: 10.1002/9780470027318.a9237

## Anexo 3

### *Actividades de divulgación científica*







## 2018

- ❖ Noche Europea de l@s investigador@s
- ❖ Actividades de difusión de las líneas de investigación e infraestructuras (laboratorios e instrumentación científica) del Departamento de Química Analítica, dirigidas a estudiantes de centros de enseñanza secundaria. Dentro de los programas ORIENTAUCO, Plan Integral de Difusión de la Facultad de Ciencias y PACE de la Universidad de Córdoba

## 2017

- ❖ Noche Europea de l@s investigador@s
- ❖ Café con Ciencia
- ❖ Actividades de difusión de las líneas de investigación e infraestructuras (laboratorios e instrumentación científica) del Departamento de Química Analítica, dirigidas a estudiantes de centros de enseñanza secundaria. Dentro de los programas ORIENTAUCO, Plan Integral de Difusión de la Facultad de Ciencias y PACE de la Universidad de Córdoba

## 2016

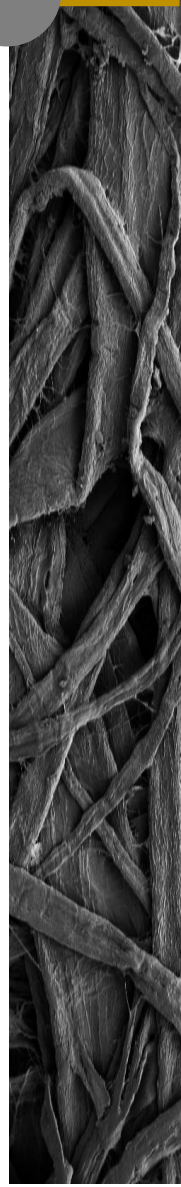
- ❖ Noche Europea de l@s investigador@s
- ❖ Actividades de difusión de las líneas de investigación e infraestructuras (laboratorios e instrumentación científica) del Departamento de Química Analítica, dirigidas a estudiantes de centros de enseñanza secundaria. Dentro de los programas ORIENTAUCO, Plan Integral de Difusión de la Facultad de Ciencias y PACE de la Universidad de Córdoba
- ❖ IV Jornadas de divulgación científica #divulga3
- ❖ Paseo por la Ciencia

## 2015

- ❖ Café con Ciencia
- ❖ Actividades de difusión de las líneas de investigación e infraestructuras (laboratorios e instrumentación científica) del Departamento de Química Analítica, dirigidas a estudiantes de centros de enseñanza secundaria. Dentro de los programas ORIENTAUCO, Plan Integral de Difusión de la Facultad de Ciencias y PACE de la Universidad de Córdoba
- ❖ Paseo por la Ciencia
- ❖ XVII Seminario internacional de ciencia, periodismo y medioambiente
- ❖ III Jornadas de divulgación científica #divulga3

## Anexo 4

### *Comunicaciones a congresos*





**ExTech 2017. 19<sup>th</sup> International symposium on advances in extraction technologies**

Santiago de Compostela, junio 2017

Comunicación oral titulada *Paper based sorptive phases*, Rafael Lucena, Julia Ríos-Gómez, Beatriz Fresco-Cala y Soledad Cárdenas

**1<sup>st</sup> Workshop Advances in Separation Techniques**

Valencia, noviembre 2016

Comunicación oral titulada *Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction*, Julia Ríos-Gómez, Rafael Lucena y Soledad Cárdenas

**IV Congreso científico de investigadores en formación de la universidad de Córdoba**

Córdoba, noviembre 2014

Póster titulado *Potencial analítico de nanomateriales híbridos bioselectivos*, Julia Ríos-Gómez





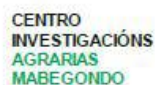
# ExTech 2017

## 19<sup>th</sup> International Symposium on Advances in Extraction Technologies



Santiago de Compostela, Spain  
June 27<sup>th</sup> – 30<sup>th</sup> 2017

### BOOK OF ABSTRACTS





---

19<sup>th</sup> International Symposium on Advances in Extraction Technologies

---

## O\_06: PAPER BASED SORPTIVE PHASES

Julia Ríos-Gómez <sup>‡</sup>, Beatriz Fresco-Cala <sup>‡</sup>, Rafael Lucena <sup>‡\*</sup>, Soledad Cárdenas <sup>‡</sup><sup>‡</sup>*Analytical Chemistry Department, Institute of Fine Chemistry and Nanochemistry. Marie Curie Building. Campus of Rabanales. University of Córdoba, 14071, Córdoba, Spain.*

\* q62luror@uco.es

Paper based analytical devices have attracted much attention in the last decade since their first proposal in 2007 by Whitesides et al [1]. Paper, as material, presents several advantages (e.g low price, high porosity, variable thickness) that make it attractive in the microextraction context. In addition, it can be easily modified in order to introduce special moieties to enhance the interaction with target analytes. In this communication, our recent studies on the topic are described and discussed while the main research lines for the near future are outlined.

Although the modification of paper or cellulose fibres in order to obtain sorptive phases for microextraction purposes have been already proposed [2,3], the procedure described in this communication does not require any complex synthetic workflow. It uses paper as simple support of the sorptive phase which is coated by simple dipping. In the first approach, polymeric phases were evaluated as coatings [4]. The procedure requires a solution of the polymer in an appropriate solvent where a segment of paper is introduced. The solution wets the paper and the evaporation of the solvent leaves a polymer coating over the support. The coating thickness may be selected controlling the number of dips and/or the concentration of the polymer in the original solution. In addition, the resulting material can be easily extended to a pipette tip which is used as extraction device. This general procedure can be adapted to any polymer soluble enough in a volatile solvent. Moreover, the potential of this workflow in order to immobilize nanomaterials have been also studied demonstrating a high versatility. In this case, carbon nanohorns have been coated on a paper support in a stable way and they have been used as sorptive phases in bioanalysis.

**Acknowledgement** Financial support from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (CTQ2014-52939R) is gratefully acknowledged.

**References:**

- [1] A. W. Martinez, S. T. Phillips, M. J. Butte, G. C. Whitesides, *Angw. Chem.* 119, 1340 (2007)
- [2] M. Saraji, B. Farajmand, *J. Chromatogr. A* 1314, 24 (2013).
- [3] V. Samanidou, L.-D. Galanopoulos, A. Kabir, K. G. Furton, *Anal. Chim. Acta* 855, 41 (2015)
- [4] J. Ríos-Gómez, R. Lucena, S. Cárdena, *Micorchem. J.*doi: 10.1016/j.microc.2017.03.026

## **1st Workshop Advances in Separation Techniques**

Valencia, noviembre 2016



## **IV Congreso Científico de Investigadores en Formación y III Congreso Científico de Investigadores en Formación en Agroalimentación**

Córdoba, 18 y 19 de noviembre de 2014



Julia Ríos Gómez  
Departamento de Química Analítica  
Universidad de Córdoba

La **nanociencia** es la rama que estudia materiales con alguna de sus dimensiones por debajo del valor arbitrario de **100 nm** y que presentan las propiedades que no se observan a nivel microscópico, como consecuencia de su tamaño. En Química Analítica, las nanopartículas se han empleado tanto en **técnicas de microextracción** como en el desarrollo de sensores. El objetivo del tratamiento de muestra es el **aumento de la selectividad y la sensibilidad** de las medidas. En este contexto, las nanopartículas pueden emplearse con dos finalidades principales: como medio extractante o como **ensayador** en el proceso de extracción. El empleo de reactivos de reconocimiento molecular, de naturaleza sintética (polímeros de impresión molecular) o biológicos (anticuerpos), y su asociación a nanopartículas, es una herramienta con gran potencial. Los **aptámeros** surgen como alternativas ideales a los inmuno reactivos tradicionales. Un aptámero es una secuencia definida de ácidos nucleicos que tiene capacidad para unirse con alta selectividad (casí específicamente) a una molécula diana. El diseño de combinaciones entre nanopartículas y moléculas de reconocimiento molecular es una línea de investigación con gran potencial en el ámbito de la Química Analítica para el desarrollo de técnicas de [micro]extracción selectivas y sensores de medida.

Contribuir a la mejora de los procesos de medida (bio)químicos mediante el desarrollo de nuevas herramientas basadas en reconocimiento molecular.

(2) **Modificación de nanopartículas** con grupos que presenten cierto grado de reconocimiento molecular.

(3) Empleo de las nanopartículas híbridas en el tratamiento de muestra y la etapa de detección.

(4) Aplicación de estas estrategias para la resolución de problemas analíticos.

- Caracterizar biomateriales de reconocimiento molecular.
  - Aptámeros.
  - Anticuerpos y MIPs.

- Sinergia de materiales híbridos de biomateriales de reconocimiento molecular con nanopartículas.

- Nanopartículas de carbono.
- Nanopartículas inorgánicas

- Desarrollo de estrategias de microextracción que simplifiquen el tratamiento de muestra basadas en dichas combinaciones.

- Aplicación a la **resolución de problemas analíticos** en diferentes campos: medioambientales, bioquímicos o alimentarios.

**Schematic representation of the synthesis of the polymeric nanocomposite.**

The process involves the following steps:

- Chlorination:** Chlorine ( $\text{Cl}_2$ ) reacts with 20 wt% of dHDT in a nitrogen atmosphere to form a chlorinated polymer.
- Thiolation:** The chlorinated polymer reacts with 20 wt% of T-mercaptan to form a thiolated polymer.
- Final Reaction:** The thiolated polymer reacts with 20 wt% of dHDT to form a thiolated polymer.
- Final Product:** The thiolated polymer is reacted with 20 wt% of dHDT to form a thiolated polymer.

Uso de biomateriales híbridos como herramientas de microextracción para determinación de alérgenos alimentarios (gliadinas de gluten de trigo) empleando aptámeros inmovilizados en la superficie de partículas magnéticas.

La electroforesis en gel (SDS-PAGE) se han utilizado para evaluar la interacción entre las gliadinas y el aptámero y la selectividad/especificidad de la interacción con las diferentes isoformas de las gliadinas.

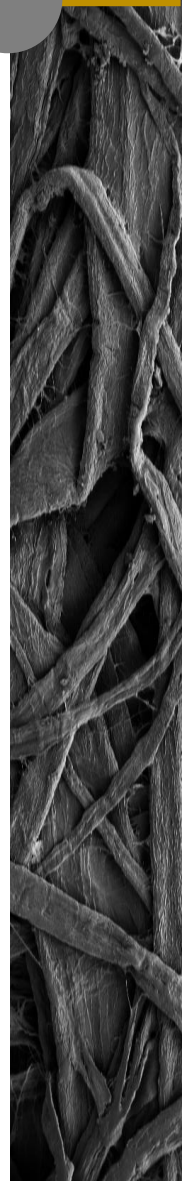
La fracción retenida de gliadinas se analizó mediante MALDI-TOF. Los resultados obtenidos mostraron que el aptámero es selectivo para la isoforma  $\gamma$ -gliadinas

[illegible]



## Anexo 5

### *Actividades de innovación docente*





#### **IV Jornadas sobre estrategias para la innovación de la actividad docente en Química Analítica**

Alcalá de Henares, julio 2018

Póster titulado *Potenciación de la autonomía del estudiante en el laboratorio analítico: experiencia en la asignatura “Química Analítica Aplicada”*, M. L. Soriano, J. Ríos-Gómez, M. A. López-Bascón, L. Arce-Jiménez

#### **III Jornadas de docencia de la Sociedad Española de Química Analítica**

Valencia, septiembre 2017

Póster titulado *Implementación de personal response systems en asignaturas de los grados de Química y Bioquímica*, J. A. Salatti-Dorado, B. Fresco-Cala, M. I. López-Martínez, J. Ríos-Gómez, S. Cárdenas, J. M. Fernández, F. Romero

#### **II Jornadas de docencia de la Sociedad Española de Química Analítica**

Alcalá de Henares, julio 2016

#### **Publicación en el Boletín de la Sociedad de Química Analítica (SEQA)**

Septiembre 2017

*Implementación de Personal Response Systems en asignaturas de los grados de Química y Bioquímica*, Salatti-Dorado, J.A.; Fresco-Cala B.; López, M.I.; Ríos-Gómez, J.; Cárdenas, S.; Fernández-Romero J.M.; Romero, F.J. Número 59

#### **Participación en Proyecto de Innovación Docente en la Modalidad 2: Proyectos de Innovación para Formación en Innovación Docente**

*Implementación de Personal Response Systems en asignaturas de los grados de Química y Bioquímica*. Salatti-Dorado, J.A.; Fresco-Cala B.; López, M.I.; Ríos-Gómez, J.; Cárdenas, S.; Fernández-Romero J.M. Curso 2016/17





IV S E  
J O B S  
O R E T  
R R  
N  
A T  
D E  
A G  
I  
A  
S



*Para la innovación  
de la actividad docente  
en  
Química Analítica*

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ  
5 Y 6 DE JULIO DE 2018



Universidad  
de Alcalá

**P-4**

**Potenciación de la autonomía del estudiante en el laboratorio  
analítico: experiencia en la asignatura "Química Analítica  
Aplicada"**

**M. L. Soriano, J. Ríos-Gómez, M. A. López-Bascón,  
L. Arce Jiménez**

*Departamento de Química Analítica, Instituto de Química Fina y Nanoquímica. Facultad de Ciencias, Edificio anexo Marie Curie del Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba. 14071, Córdoba; qa2sodom@uco.es*

56

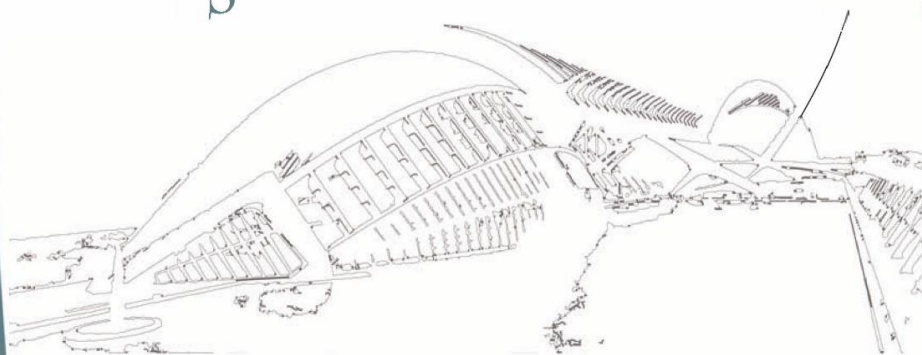
La adquisición de la competencia relacionada con el trabajo en el laboratorio de los alumnos en el Grado de Químicas es fundamental a la hora de facilitar su incorporación al mundo laboral. En este Grado se imparten asignaturas con una gran parte de créditos de tipo práctico para cumplimentar y aplicar los conocimientos adquiridos en la parte teórica de las asignaturas. Sin embargo, el trabajo práctico de laboratorio tradicionalmente se reduce a seguir los pasos resumidos en un guion de prácticas suministrado por el profesor. La experiencia de los profesores es que los alumnos solamente repiten las indicaciones del guion y de esa forma no se fomenta su aprendizaje ni que se razonen cada una de las etapas del procedimiento. Esto dejaría en desventaja los alumnos a la hora de afrontar una problemática química cuando se enfrenten al mundo laboral. En otras universidades la metodología de trabajo en estas clases prácticas se está modificando, ya que los alumnos tienen que resolver un problema analítico que se les da, teniendo que buscar en bibliografía los métodos más adecuados y evaluar el más factible

III JORNADA  
 SOBRE  
 ESTRATEGIAS



*Para la innovación  
 de la actividad docente en  
 Química Analítica:  
 Contenidos y Herramientas*

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
 5 DE SEPTIEMBRE DE 2017



UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

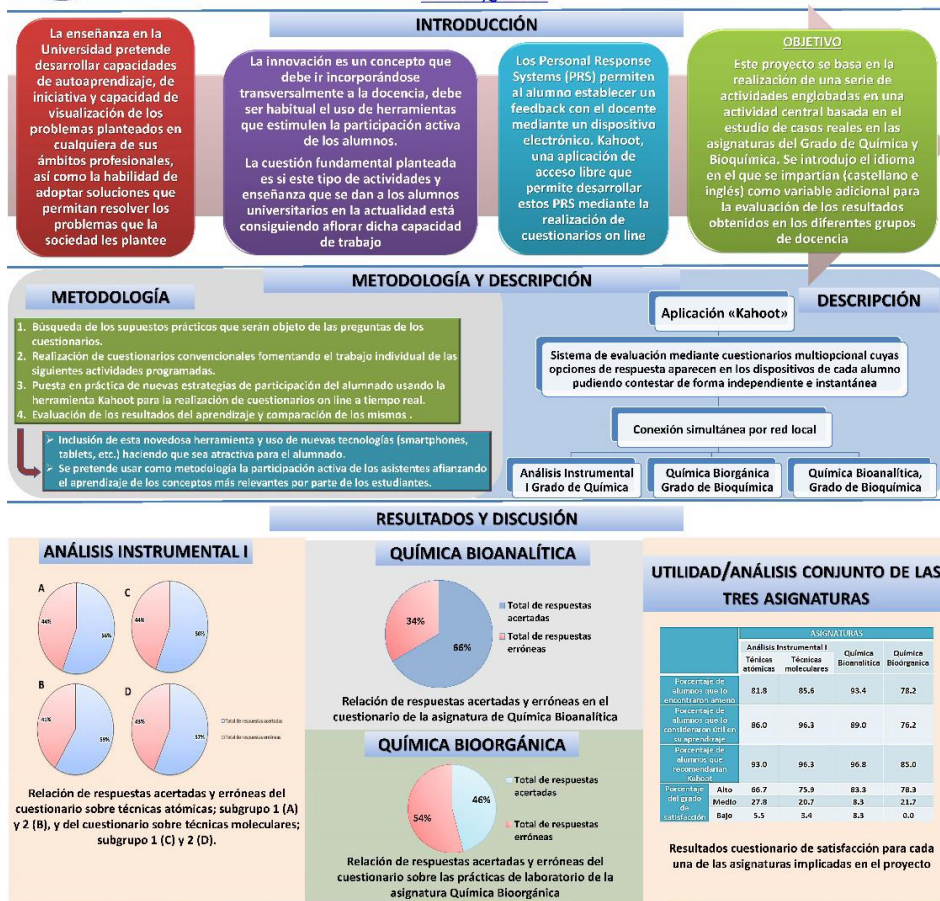


## IMPLEMENTACIÓN DE PERSONAL RESPONSE SYSTEMS EN ASIGNATURAS DE LOS GRADOS DE QUÍMICA Y BIOQUÍMICA

José Ángel Salatti-Dorado<sup>a\*</sup>, Beatriz Fresco Cala<sup>a</sup>, Julia Ríos Gómez<sup>a</sup>, María Isabel López Martínez<sup>a</sup>, Juan Manuel Fernández Romero<sup>a</sup>, Francisco José Romero Salguero<sup>b</sup>, María Soledad Cárdenas Aranzana<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento Química Analítica y <sup>b</sup>Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba (España)

[a72sadoj@uco.es](mailto:a72sadoj@uco.es)



### CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la utilidad de este tipo de aplicaciones interactivas, que fomentan la participación del estudiante.
- La diversidad de asignaturas, grados, número de alumnos e idiomas utilizados en el proyecto demuestran la gran versatilidad de la aplicación móvil seleccionada que permite el diseño *ad-hoc* del cuestionario.
- La herramienta también ha sido útil para evaluar el nivel de aprendizaje y atención de los alumnos por parte del profesor. Asimismo, el alumno ha podido autoevaluarse para determinar el grado real de conocimiento adquirido durante el desarrollo de las asignaturas.
- Este tipo de experiencia, no sólo sirve como herramienta de trabajo para los docentes, sino que, además permite al alumno acercarse de una manera más amena a aspectos más aplicados de los conocimientos que cada asignatura puede mostrar.

## P-1

# Implementación de Personal Response Systems en asignaturas de los Grados de Química y Bioquímica

**J.Á. Salatti-Dorado<sup>a</sup>, B. Fresco Cala<sup>a</sup>, J. Ríos Gómez<sup>a</sup>,  
M.I. López Martínez<sup>b</sup>, J.M.I. Fernández Romero<sup>a</sup>, F.J.  
Romero Salguero<sup>b</sup> y M<sup>a</sup>.S. Cárdenas Aranzana<sup>a</sup>**

*<sup>a</sup>Departamento Química Analítica y <sup>b</sup>Departamento de  
Química Orgánica. Facultad de Ciencias, Universidad de  
Córdoba, Campus de Rabanales, 14071, Córdoba  
(España), a72sadoj@uco.es*

36

La imagen de la docencia universitaria tradicional se ha visto modificada por los principios que definen el Espacio Europeo de Educación Superior. La enseñanza en la Universidad pretende desarrollar capacidades de autoaprendizaje, de iniciativa y capacidad de visualización de los problemas planteados en cualquiera de sus ámbitos profesionales, así como la habilidad de adoptar soluciones que permitan resolver los problemas que la sociedad les plantee. En este sentido, se requiere que el alumno adquiera las competencias para aplicar los conocimientos adquiridos en las clases magistrales a supuestos prácticos. Por parte del profesor, esto implica una adaptación de su metodología de manera que se incremente el trabajo más personalizado con los alumnos en los grupos de docencia reducidos. Por otra parte, la innovación es un concepto que debe ir incorporándose transversalmente a la docencia, es por ello que cada vez más habitualmente se están usando herramientas que estimulan la participación activa de los alumnos. La cuestión fundamental planteada es si realmente con este tipo de actividades y enseñanza que se dan a los

---

III Jornada sobre estrategias para la innovación de la actividad docente en Química Analítica: contenidos y herramientas. Universitat de València, 5 de septiembre 2017

alumnos universitarios en la actualidad se está consiguiendo aflorar dicha capacidad de trabajo autónomo y autocrítica.

Los Personal Response Systems (PRS) permiten al alumno establecer un feedback con el docente mediante un dispositivo electrónico donde se realiza una serie de preguntas y los resultados se obtienen e interpretan en tiempo real. Los primeros PRS fueron los denominados clickers, el problema que presenta este tipo de dispositivos es la necesidad de un software específico, conocimiento previo por parte del profesor y la necesidad de llevar al aula un material concreto. En 2013 aparece Kahoot, una página web de acceso libre que permite desarrollar la actividad descrita anteriormente, pero con algunas ventajas añadidas: la realización de cuestionarios on line siendo solo necesario dispositivos electrónicos con acceso a internet que hoy en día todo el alumnado posee.

37

Se pretende con este proyecto de innovación docente disponer de una herramienta que permita conocer en tiempo real y de una forma simple si el alumno es capaz de responder a cuestiones sencillas, con un marcado carácter aplicado para evaluar el grado de comprensión de la materia. En este sentido, el uso de nuevas tecnologías, en concreto las aplicaciones de móvil parecen un entorno amigable para los alumnos que les predispondrán favorablemente al desarrollo de esta actividad. Este proyecto se basa en la realización de una serie de actividades englobadas en una actividad central basada en el estudio de casos reales relacionados con diferentes temáticas las cuales pertenecen al área de estudio en el que se basa dicha asignatura. Con dicha actividad los alumnos podrán de una manera muy positiva incrementar tanto su capacidad de síntesis así como su "madurez laboral" en aquellos ámbitos en los cuales se basa en enfrentamiento de un problema en un ambiente laboral real. El cuestionario se aplicó en asignaturas del Grado de Química y Bioquímica en las preguntas se realizaron sobre aspecto teóricos y prácticos de las mismas así como sobre

# ACTUALIDAD ANALÍTICA



## BOLETÍN

de la

Sociedad Española de Química Analítica



2444-8818

Número 59, SEPTIEMBRE 2017



## III JORNADAS DOCENCIA SEQA

## IMPLEMENTACIÓN DE PERSONAL RESPONSE SYSTEMS EN ASIGNATURAS DE LOS GRADOS DE QUÍMICA Y BIOQUÍMICA

José Ángel Salatti-Dorado, Beatriz María Fresco Cala, María Isabel López Martínez, Julia Ríos Gómez, M<sup>a</sup> Soledad Cárdenas Aranzana, Juan Manuel Fernández Romero, Francisco José Romero Salguero  
Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba. 14072, Córdoba, SPAIN

La enseñanza en la Universidad pretende, entre otros objetivos, desarrollar capacidades de autoaprendizaje, iniciativa, y capacidad de visualización de los problemas planteados en cualquiera de sus ámbitos profesionales, así como la capacidad de adoptar soluciones que permitan resolver los problemas que la sociedad plantea. La imagen de la docencia universitaria tradicional se ha visto modificada por los principios que definen el Espacio Europeo de Educación Superior. La enseñanza en la Universidad pretende desarrollar capacidades de autoaprendizaje, de iniciativa y capacidad de visualización de los problemas planteados en cualquiera de sus ámbitos profesionales, así como la habilidad de adoptar soluciones que permitan resolver los problemas que la sociedad les plantee. En este sentido, se requiere que el alumno adquiera las competencias para aplicar los conocimientos adquiridos en las clases magistrales a supuestos prácticos. Por parte del profesor, esto implica una adaptación de su metodología de manera que se incremente el trabajo más personalizado con los alumnos en los grupos de docencia reducidos. Por otra parte, la innovación es un concepto que debe ir incorporándose transversalmente a la docencia, es por ello que cada vez más habitualmente se están usando herramientas que estimulan la participación activa de los alumnos. La cuestión fundamental planteada es si realmente con este tipo de actividades y enseñanza que se dan a los alumnos universitarios en la actualidad se está consiguiendo aflorar dicha capacidad de trabajo autónomo y autocrítica.

Los Personal Response Systems (PRS) permiten al alumno establecer un feedback con el docente mediante un dispositivo electrónico donde se realiza una serie de preguntas y los resultados se obtienen e interpretan en tiempo real. Los primeros PRS fueron los denominados clickers. El problema que presenta este tipo de dispositivos es la necesidad de un software específico, conocimiento previo por parte del profesor y la necesidad de llevar al aula un material concreto. En 2013 aparece Kahoot, una página web de acceso libre que permite desarrollar la actividad descrita anteriormente, pero con algunas ventajas añadidas: la realización de cuestionarios on line siendo solo necesario dispositivos electrónicos con acceso a internet que hoy en día todo el alumnado posee.

A lo largo del curso académico 2016-2017 se ha usado dicha herramienta para el seguimiento de los conocimientos adquiridos por diferentes grupos de alumnos pertenecientes a distintos niveles y asignaturas. Este sistema ha permitido la comparación de los resultados obtenidos tanto dentro de una misma clase como entre diferentes tipos de docencia presencial (prácticas de

laboratorio y/o seminarios teóricos y prácticos), en grupos de docencia en castellano e inglés. Se pretende disponer de una herramienta que permita conocer en tiempo real y de una forma simple si el alumno es capaz de responder a cuestiones sencillas, con un marcado carácter aplicado para evaluar el grado de comprensión de la materia. En este sentido, el uso de nuevas tecnologías, en concreto las aplicaciones de móvil parecen un entorno amigable para los alumnos que les predispondrán favorablemente al desarrollo de esta actividad. Se basa en la realización de una serie de actividades englobadas en una actividad central basada en el estudio de casos reales relacionados con diferentes temáticas que pertenecen al área de estudio de dicha asignatura. Con esta actividad los alumnos podrán de una manera muy positiva incrementar tanto su capacidad de síntesis como su "madurez laboral" en aquellas cuestiones basadas en la resolución de un problema en un ambiente laboral real. El cuestionario se aplicó en asignaturas del Grado de Química y Bioquímica y las preguntas se realizaron sobre aspectos teóricos y prácticos de las mismas así como sobre exposiciones preparadas por los alumnos. También se introdujo el idioma en el que se impartían (castellano e inglés) como variable adicional para la evaluación de los resultados obtenidos en los diferentes grupos de docencia. El plan de trabajo a seguir establece una serie de pautas, que se van uniendo y autoalimentándose a lo largo de período de duración de cada asignatura. El plan de trabajo se concreta en los siguientes aspectos:

- Búsqueda de los supuestos prácticos que serán objeto de las preguntas de los cuestionarios.
- Realización de una serie de cuestionarios convencionales que se llevarán a cabo en diferentes sesiones conforme se vaya impartiendo la materia. Dichas sesiones fomentarán el trabajo individual, siendo de esta manera preparativas de las siguientes actividades programadas.
- Puesta en práctica de nuevas estrategias de participación del alumnado. Consistirá en una sesión final donde se usará la herramienta Kahoot para la realización de un cuestionario *online* a tiempo real donde todos los alumnos participarán individual y activamente. Las preguntas de dicho cuestionario serán extraídas en un porcentaje significativo de los cuestionarios realizados durante la primera etapa.
- Evaluación de los resultados del aprendizaje y comparación de estos con los del nivel alcanzado por cada estudiante para detectar mejoras en aquellos aspectos que se hayan identificado como deficientes en las PRS. Por tanto, la inclusión de esta herramienta y la

### III JORNADAS DOCENCIA SEQA

compatibilidad con las nuevas tecnologías (smartphones, tablets, etc.) hacen que esta actividad sea atractiva para el alumnado. Con este nuevo formato de docencia se pretende usar como metodología la participación activa de los asistentes, que hará que el aprendizaje de los conceptos más relevantes de la materia sean más fácilmente asimilables por parte de los estudiantes.

Los resultados obtenidos en cada asignatura impartida para la realización de este proyecto se muestran a continuación en las diferentes figuras realizadas.

#### ANÁLISIS INSTRUMENTAL I

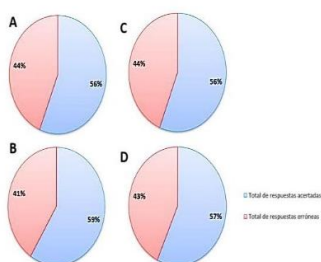


Figura 1. Relación de respuestas acertadas y erróneas del cuestionario sobre técnicas atómicas; subgrupo 1 (A) y 2 (B), y del cuestionario sobre técnicas moleculares; subgrupo 1 (C) y 2 (D).

#### QUÍMICA BIOANALÍTICA

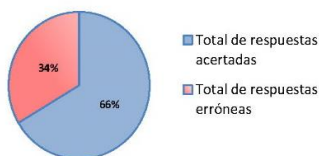


Figura 2. Relación de respuestas acertadas y erróneas en el cuestionario de la asignatura de Química Bioanalítica.

#### QUÍMICA BIOORGÁNICA

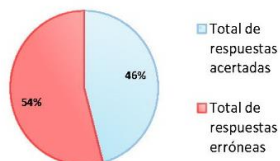


Figura 3. Relación de respuestas acertadas y erróneas del cuestionario sobre las prácticas de laboratorio de la asignatura Química Bioorgánica.

El menor porcentaje de aciertos en la asignatura de Química Bioorgánica puede deberse a la dificultad añadida de la realización del cuestionario en inglés.

La utilidad de este proyecto se ha determinado mediante el cuestionario de satisfacción de la actividad, cuyos resultados pueden verse en la Tabla 1.

	ASIGNATURAS			
	Análisis Instrumental I	Química Bioanalítica	Química Bioorgánica	
Porcentaje de alumnos que lo encontraron ameno	81.8	85.6	93.4	78.2
Porcentaje de alumnos que lo consideraron útil en su aprendizaje	86.0	96.3	89.0	76.2
Porcentaje de alumnos que recomendaban Kahoot	93.0	96.3	96.8	85.0
Porcentaje del grado de satisfacción	Alto	66.7	75.9	83.3
	Medio	27.8	20.7	8.3
	Bajo	5.5	3.4	8.3

Tabla 1. Resultados cuestionario de satisfacción para cada una de las asignaturas implicadas en el proyecto.

A modo de conclusión se puede decir que el análisis de los resultados obtenidos permite poner de manifiesto la utilidad de este tipo de aplicaciones interactivas, que fomentan la participación del estudiante. El modelo se ha aplicado a diferentes asignaturas de características educativas muy variadas tanto en el tipo de alumnos (estudiantes de los grados de Química y Bioquímica de diferentes cursos), la lengua utilizada para la impartición de la misma (inglés y español) y número de alumnos. Esto ha sido posible dada la versatilidad de la aplicación móvil que permite el diseño *ad-hoc* del cuestionario. La herramienta también ha sido útil para evaluar el nivel de aprendizaje y atención de los alumnos por parte del profesor. Asimismo, el alumno ha podido autoevaluarse para determinar el grado real de conocimiento adquirido durante el desarrollo de las asignaturas. En nuestra opinión, este tipo de experiencia, no sólo sirve como herramienta de trabajo para los docentes, sino que, además permite al alumno acercarse de una manera más amena a aspectos más aplicados de los conocimientos que cada asignatura puede mostrar.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen el apoyo de la Universidad de Córdoba (UCO) por la concesión del proyecto 2016-2-2005, Modalidad 2, en el marco del Programa de Formación para la Innovación Docente (Curso 2016/2017).



